DIE IN – VITRO – WIRKUNG DER KOMBINATION VON MEZLOCILLIN UND METRONIDAZOL GEGEN ANAEROBIER DER GATTUNGEN FUSOBACTERIUM, SPHAEROPHORUS, PEPTOCOCCUS, PEPTOSTREPTOCOCCUS UND CLOSTRIDIUM

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
ROLF ULLRICH HOFFMANN
aus Bonn–Bad Godesberg

BONN 1980

DIE IN – VITRO – WIRKUNG DER KOMBINATION VON MEZLOCILLIN UND METRONIDAZOL GEGEN ANAEROBIER DER GATTUNGEN FUSOBACTERIUM, SPHAEROPHORUS, PEPTOCOCCUS, PEPTOSTREPTOCOCCUS UND CLOSTRIDIUM

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
ROLF ULLRICH HOFFMANN
aus Bonn–Bad Godesberg

BONN 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Werner
2. Gutachter: Prof. Dr. S. Kowalewski

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Immunologie der Universität Bonn

Druck: M.Wehle Dissertationsdruck Alfter-Witterschlick

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I	Einleitung	7
	A) Anaerobierinfektionen	7
	a. Historisches	7
	b. Einteilung, Incidenz	8
	c. Erkrankungen	11
	d. Natürliches Erregerreservoir	17
	e. Pathogenese und Prädisposition	19
	f. Diagnostik	19
	g. Therapie	22
	B) Metronidazol	24
	C) Mezlocillin	26
	D) Untersuchungsverfahren	27
	E) Keime	27
	F) Spezielle Fragestellung	28
II	Material und Methoden	29
	A) Stämme	29
	B) Nährmedien	30
	C) Antibiotica	32
	D) Bouillondilutionstest	32
	E) Agardilutionstest	36
	F) Gußplattentest	39
III	Ergebnisse	44
	A) Anaerobe gramnegative Stäbchen (Sphaerophorus- u. Fusobacterium-Arten)	44
	B) Anaerobe grampositive Kokken	66
	C) Clostridien	88

		Seite
IV	Diskussion	109
	A) Labortechnische Ergebnisse und Auswertungen	109
	a) Zusammenwirkverhalten von Mezlocillin und Metronidazol	109
	1. Definition und Allgemeines	109
	2. Einzelne Ergebnisse	110
	3. Gramverhalten	114
	4. Methodenabhängigkeit	116
	5. Zeitabhängigkeit	117
	6. Keimdichteabhängigkeit	117
	b) Methodenvergleich	118
	1. MHK der Monosubstanzen - Wirkstärkevergleich der Antibiotica	118
	2. MHK der Kombination - Wirkstärkevergleich der Methoden	120
	3. Zeitaufwand, Versagerquote	141
	4. Klinische Relevanz der Methoden	141
	B) Relation zu anderen Arbeiten	143
	C) Klinische Relevanz der Untersuchungen	145
	1. Keime und Antibiotica	145
	2. Minimale Hemmkonzentration	145
	3. Serumspiegel und sonstige pharmakokinetische Größen	150
	4. Bedeutung für die Therapie	153
V	Zusammenfassung	154
IV	Literaturverzeichnis	157

I Einleitung

A) Anaerobierinfektionen

a. Historisches

Durch anaerobe Bakterien hervorgerufene Erkrankungen sind, wenn auch nicht in ihrer Ätiologie, so doch in ihrem klinischen Bild, schon sehr lange bekannt. Im Jahre 460 v. Chr. beschrieb HIPPOKRATES den Gasbrand, im 4. Jahrhundert v. Chr. XENOPHON die ulceröse Gingivitis bei griechischen Soldaten. Louis PASTEUR schrieb über Buttersäurevergärung bei einem "Vibrion butyrique", heute als Clostridium butyricum bekannt. Ende des 19. Jahrhunderts wurden die meisten Clostridien gefunden, 1892 das Clostridium perfringens durch WELCH und NUTTAL; 1883 beschrieb W. D. MÜLLER die Fusobakterien, 1893 berichtete VEILLON über die Reinkultur obligat anaerober Mikrokokken (105).

Altmeister der Erforschung der Scheidenflora wie MANU af HEURLIN (39), MENGE (58), DÖDERLEIN (62), WEGELIUS (62), SCHRÖDER (62) und JASCHKE (62) befaßten sich schon um die Jahrhundertwende mit Anaerobierinfektionen des weiblichen Genitales. MANU af HEURLIN definierte 1914 vier Reinheitsgrade der Scheide, wobei die Bedeutung der Anaerobier mit zunehmer Verschmutzung steigt (39). JASCHKE erkannte, daß der Anteil der Anaerobier an der Vaginalflora größer ist als der der Aerobier.

Anfang des Jahrhunderts wurden einige der besten Studien über Anaerobierinfektionen gemacht, als erkannt wurde, daß diese Keime für intraabdominelle Sepsis, Puerperalsepsis und Aspirationspneumonie verantwortlich waren (4). Leider gerieten diese Erkenntnisse zu Beginn der antimikrobiellen Ära in Vergessenheit; Anaerobierinfektionen wurden mit Gasbrandinfektionen gleichgesetzt (4).

Das in den letzten Jahren neuerlich aufgetretene Interesse an Anaerobierinfektionen ist wohl im wesentlichen darauf zurückzuführen, daß mittlerweile eine genauere Klassifizierung in der früher verwirrenden Vielfalt der Arten existiert, die Technik im Umgang mit Anaerobiern verbessert und auch kleineren Laboratorien zugänglich gemacht und anaerobierwirksame Antibiotika

gefunden wurden (4).
Nach jetzigem Wissensstand ist die Bedeutung der Anaerobierinfektionen so groß, daß kein kurativ tätiger Arzt es versäumen sollte, darüber informiert zu sein (117). Nach der EPH-Gestose und der Verblutung ist die Anaerobierinfektion heute in der Bundesrepublik die dritthäufigste Müttersterblichkeitsursache. Angesichts dieser Tatsache ist es für WEISSENBACHER unverständlich, daß in vielen Fällen so geringes Interesse für diese Infektionen besteht, zumal sie einen hohen Prozentsatz an Infektionen des weiblichen Urogenitalsystems ausmachen (111).
Die große Häufigkeit von Bacteroidaceeninfektionen wurde von vielen Autoren aufgezeigt (41,96, 124).

b. Einteilung, Incidenz
Infektionen durch anaerobe Bakterien lassen sich einteilen in Erkrankungen, die durch ektotoxinbildende grampositive sporenbildende Stäbchen (Clostridien), solche die durch sporenlose Anaerobier, hauptsächlich gramnegative Stäbchenbakterien (Bacteroidaceen) wie Fusobakterien, Bacteroides- und Sphaerophorusarten sowie Eubakterien und Corynebakterien, grampositive Kokken wie Peptokokken und Petostreptokokken oder gramnegative Kokken wie Veillonella (36,82) hervorgerufen werden. Auch Infektionen durch Aktinomyceten zählen zu den Anaerobierinfektionen(53,82,67).
Genaue Angaben über die hohe Incidenz anaerober Infektionen finden sich bei BARTLETT (Tab. 2) (4) und bei WERNER (Tab.1) (117).

Tabelle 1: Incidenz von Bacteroidaceeninfektionen nach WERNER

Krankheitsbild	Vorkommen von Bakteroidazeen in mono- bzw. polymikrobieller Infektion
Septikämie	~10% der positiven Blutkulturen
Septischer Abort	~50%
Endokarditis	40-50% der anaeroben Endokarditiden
Meningitis	Keine genauen Angaben
Hirnabszeß	10-50%
Chronische Otitis media	keine genauen Angaben
Infektionen im zervikofazialen und oropharyngealen Bereich	"Recht häufig"
Pneumonie/Lungenabszeß/ Pleuraempyem	5o-60% der anaeroben pleuropulmonalen Infektionen
Leber- und Gallenweginfektionen	Bis 50%
Appendizitis	~ 50%
Peritonitis	~ 50%
Andere intraabdominale Eiterungsprozesse	> 50%
Postoperative Wundinfektionen (besonders nach Laparotomie)	Bis 50%
Endometritis /Pyometra Eitrige Adnexprozesse Kolpitis /Zervizitis / Bartholinitis	> 50%
Osteomyelitis / Gelenkprozesse	Vermutlich häufiger als bisher bekannt
Harnwegsinfektionen	~1%
Hautinfektionen/hautnahe Eiterungen	"Nicht selten" bzw. "recht häufig"

Tabelle 2: Incidenz von Anaerobierinfektionen nach BARTLETT

Erkrankungsart	Zahl der Fälle	Anaerobier gefunden		nur Anaerobier gefunden	
Kopf und Hals					
Hirnabszeß	18	16	(89%)	10	(56%)
Chron. Sinusitis	83	44	(53%)	26	(31%)
Brust					
Aspirationspneumonie	70	61	(87%)	32	(46%)
	47	29	(62%)	15	(32%)
	17	17	(100%)	6	(35%)
Lungenabszeß	57	53	(93%)	32	(56%)
	26	22	(85%)	19	(73%)
Empyem	83	63	(76%)	29	(35%)
	37	23	(62%)	17	(46%)
Bauch					
intraabdominelle	72	68	(94%)	10	(14%)
Sepsis	64	52	(81%)	24	(38%)
	40	36	(90%)	12	(30%)
Blinddarmabszeß	100	96	(96%)	1	(1%)
Leberabszeß	40	21	(52%)	15	(32%)
Weibl. Genitaltrakt					
Mischinfektion	33	33	(100%)	12	(36%)
	91	67	(74%)	34	(37%)
	50	36	(72%)	nicht spezifiziert	
Beckenabszeß	25	22	(88%)	14	(56%)
Vulvovaginalabszeß	55	41	(75%)	14	(25%)
Vaginalabszeß	64	63	(98%)	2	(3%)
Septischer Abart mit Sepsis	34	23	(67%)		
	76	48	(3%)		
Beckeninfektion	54	13	(25%)	4	(7%)
Haut u. Bindegewebe					
Bindegewebsinfektionen nach Bauchoperationen	200	120	(60%)	nicht spezifiziert	
Cellulitis (keine Clostridien)	12	9	(75%)	1	(8%)
Diabetische Fußulcera	20	19	(95%)	1	(5%)
Bindegewebsabszeß	35	21	(60%)	9	(26%)
Decubitusulcus mit Septikämie	19	12	(63%)		

Der hohe Anteil der reinen Anaerobierinfektionen und auch der aeroben Mischinfektionen ist deutlich.
Postoperative Komplikationen durch Anaerobierinfektionen sind wesentlich häufiger als bisher angenommen - 30-40% der postoperativen Infektionen (121). Grund dafür ist im wesentlichen eine Anaerobier nicht berücksichtigende Diagnostik (121).

Kein Teil des Körpers bleibt von Anaerobierinfektionen grundsätzlich verschont. Die hohe Dunkelziffer dieser Infektionen läßt sich im wesentlichen erklären durch (118):

1) Erfolgreiche chirurgische Eingriffe ohne vorherige ätiologische Abklärung;
2) Mikrobiologisch-diagnotische Unterversorgung;
3) Uncharakteristische Krankheitsverläufe - kein Verdacht
4) Ungeeignetes Untersuchungsmaterial
5) Maskierung durch frühzeitige Chemotherapie

c. Erkrankungen
Typische, durch Anaerobier hervorgerufene Erkrankungen sind: Pleuropulmonale Infekte, wie Pneumonie,Empyem, Abszeß, auch Meningitis und Hirnabszeß, Sinusitis, Otitis, Infektionen des weiblichen Genitales, Puerperalsepsis, Osteomyelitis, Gelenkprozesse, lokale Eiterungen, generalisierte Sepsis, postoperative Infektionen sowie Tetanus, Gasbrand und Botulismus (19,85, 89, 118, 35, 23, 24, 41, 63, 65, 79, 96, 123, 129).
Pathogenetisch sind bei den Bacteroidaceen nur einige Bacteroidesarten, eine Fusobakterienart und drei Sphaerophorusarten von Bedeutung:
Bacteroides: B. fragilis, B. thetaiotaomicron, B. vulgatus, B. distasonis,B. splanchnicus, B. melaninogenicus, B. oralis;
Fusobacterium: F. fusiforme;
Sphaerophorus: S. necrophorus, S. varius, S. freundii; sie rufen im wesentlichen Septikämien und lokale Eiterungsprozesse hervor (117, 118).

Peptokokken und Peptostreptokokken rufen Wundinfekte, mono- und polymikrobielle Eiterungsprozesse, Sepsis, Endokarditis, Schweißdrüsen-, Lungen-, Leber- und Hirnabszesse, Osteomyelitis und gasbildende Zellulitis hervor (16, 44, 74, 117, 118, 126).

Propionibacterium (Corynebacterium) acnes ruft mono- und polymikrobielle Eiterungsprozesse sowie Sepsis hervor (118), Eubacterium-Arten polymikrobielle Eiterungsprozesse.
Clostridien sind bei vier Erkrankungsgruppen zu finden:

I: Lebensmittelvergiftung
II: Ektotoxinvergiftung (Tetanus und Botulismus)
III: Gewebsinfekte - einfacher Wundinfekt
- aerob- anaerober Mischinfekt
- Zellulitis
- Gasbrand
IV: Septikämie

Actinomyces israelii ruft die granulomatöse Actinomycose in ihrer verschiedenen Lokalisation hervor, aber auch Septikämien und sonstige bei Anaerobiern gefundene Erkrankungsformen (53,67, 82).
Verschiedene Autoren bringen Anaerobierinfektionen in Zusammenhang mit Carcinomen, mitunter ist der Anaerobierinfekt das erste Krankheitszeichen des Tumors (26,40).

Sehr häufig werden Anaerobierinfektionen der Lunge übersehen. Dies ist wohl am ehesten durch die Schwierigkeit zu erklären, suffizientes Untersuchungsmaterial zu erhalten.

Tabelle 3: Erkrankungsart in 239 Fällen von Anaerobierinfektion der Lunge nach FINEGOLD (26)

	Fälle 1899-1944	Fälle 1945-1970
Lungenabszeß ohne Empyem	8	21
Lungenabszeß mit Empyem	15	25
necrotisierende Pneumonie ohne Empyem	28	5
necrotisierende Pneumonie mit Empyem	17	9
miliare Abszesse nach Sepsis ohneEmpyem	26	9
miliare Abszesse nach Sepsis mit Empyem	10	5
Empyem ohne Abszeß	65	93
reine Pneumonie	4	10
Gemischte Lungenläsion	0	8
Gesamt	173	185
Gesamt mit Empyem	107	132

Tabelle 4: In 44 Fällen von Lungeninfektionen isolierte Keime nach FINEGOLD (26)

gefundene Bakterien	Zahl der Fälle	% der Fälle
nur Anaerobier	16	36
Mischinfektionen	28	64
Anaerobier:		
Fusobacterium fusiforme	17	
Sphaerophorus varius	1	
Sphaerophorus necrophorus	1	
Bacteroides melaninogenicus	19	
B. fragilis	8	
B. oralis	7	
B. corrodens	1	
B. pneumosintes	1	
nicht def. gram-negative Bakterien	1	
Peptostreptococcus	22	
Peptococcus	11	
Microaerophiler streptococcus	4	
Veillonella	6	
Eubacterium lentum	5	
Eubacterium sp.	3	
Catalase-negative nichtsporenbildende gram-positive Bakterien	3	
Propionibacterium acnes	4	
Clostridium	7	
Aerobier und fakultative Aerobier		
Streptococcus pneumoniae	6	
Staphylococcus aureus	8	
Streptococcus faecalis	3	
Klebsiella sp.	6	
Enterobacteriaceae (andere)	8	
Pseudomonas aeruginosa	2	
Haemophilus influenzae	5	

Der häufigste Grund für Lungenerkrankungen durch Anaerobier ist die Aspiration von Speichel; hier sind 10^7 aerobe und 10^8 anaerobe fakultativ pathogene Keime/ml enthalten (6,32, 53, 72). Komatöse und alkoholisierte Patienten sowie Diabetiker sind besonders gefährdet.
Anaerobierinfektionen des weiblichen Urogenitaltraktes werden mit abnehmer Häufigkeit hervorgerufen durch (111):

Bacteroides
Fusobakterien
Sphaerophorus
Peptococcus
Peptostreptococcus

Die ursächlichen Keime gehören entweder der normalen Standortflora an oder sind vom Darm eingeschleppt worden.

Tabelle 5: Bei 91 Infektionsfällen des weiblichen Genitales isolierte anaerobe Keime nach SWENSON (100)

Bacteroides melaninogenicus	19	
Bacteroides fragilis	15	
Bacteroides spp.	27	
		61
Peptococcus prevotii	10	
Peptococcus magnus	4	
Peptococcus spp.	7	
		21
Peptostreptococcus anaerobius	11	
Peptostreptococcus intermedius	7	
Peptostreptococcus spp.	1	
		19
Anaerober streptococcus	9	
Fusobacterium spp.	9	
Eubacterium spp.	9	
Clostridium spp.	6	
Andere	7	
		40
Gesamt		141

Zu den Krankheitsprozessen gehören an der Vulva Bartholinitis und Bartholinischer Abszeß, in der Vagina Kolpitis und Fluor, am Uterus Endometritis, Pyometra, septischer Abort und Puerperalfieber, an den Adnexen Adnexitis, Pyosalpinx und Tuboovarialabszeß, im Douglas'schen Raum Abszeß und Peritonitis; ansonsten Harnwegsinfekte, Cystitis, Wundinfektionen und Sepsis (18,47,70, 77, 78, 80, 112, 117).

Infektionen durch Anaerobier nach Bauchoperationen sind in ihrer Häufigkeit stark von der waltenden Sterilität abhängig. Die Keime werden bei der Präparation am Darm in die Blutbahn eingeschleppt. GIERHAKE wies bei einer Studie nach, daß in 50% der Bauchoperationen, bei denen präoperativ keine Anaerobier im Blut waren, postoperativ solche nachweisbar waren (33). In 20 Fällen fanden sich (33):

Bacteroides	6
E. coli	4
anaerobe Streptokokken	2
D- Streptokokken	1
Alcalescenz-Dispar-Gruppe	1

Bei Kindern wurden mit abnehmer Häufigkeit folgende durch Anaerobier hervorgerufene Erkrankungen von SIMON und TOELLER aufgeführt (89):

1. Septikämie
2. Peritonitis
3. Meningitis /Hirnabszeß
4. Aspirationspneumonie / Lungenabszeß
5. Intraabdominelle Abszesse
6. Weichteilabszesse
7. Arthritis purulenta
8. Osteomyelitis
9. Otitis media chronica
10. Chorionamnionitis

d. Natürliches Erregerreservoir

Die menschlichen Schleimhäute beherbergen alle oben genannten anaeroben Bakterien in wechselnder Zahl (95,111,117,118, 119, 129).

Der jeweilige Standort ist aus den folgenden Tabellen zu ersehen (Tabelle 6 u. 7).

Tabelle 6: Normaler Standort pathogenetisch wichtiger Bacteroidaceen nach WERNER (117)

Gattung Spezies	Synonyme in der angloamerikanischen Literatur	Normaler Standort	Eiterungsprozesse Monomikrobiell	Eiterungsprozesse Polymikrobiell	Sepsis
Bacteroides					
B. fragilis	B. fragilis	Dickdarm	++++	++++	++++
B. thetaiotaomicron			+++	+++	++
B. vulgatus			-	(+)	-
B. distasonis			-	+	-
B. splanchnicus			-		
B. melaninogenicus	B. melaninogenicus subspecies asaccharolyticus	Oropharynx; Darm	-	+++	-
B. putredinis		Darm	-	?	-
B. oralis		Oropharynx; weibliche Genitalien	-	+	(+)
Fusobacterium					
F. fusiforme	F.nucleatum F. polymorphum	Oropharynx	+	+++	(+)
Sphaerophorus					
Sph. necrophorus	F. necrophorum	Oropharynx	+	++	(+)
Sph. varius	F. varium	Dickdarm	+	++	(+)
Sph. freundii	Sph. mortiferus/ F. mortiferum	Dickdarm	+	+	(+)

+) bis ++++: vereinfachte Kennzeichnung der relativen Häufigkeit nach eigenen Befunden und Angaben in der Literatur.

Tabelle 7: Normaler Standort fakultativ pathogener Anaerobier beim Menschen nach FINEGOLD (26)

Sporenlose Bakterien: Gram-positive

Ort	Clostridium	Actinomyes	Bifidobacterium	Eubacterium	Lactobacillus	Propionibacterium
Haut	0	0	0	±	0	2
Oberer Respirationstrakt	0	1	0	±	0	1
Mund	±	1	1	1	1	±
Intestinum	2	±	2	2	1	±
weibl. Genitale	0	0	0	U	0	U
Urethra	±	0	0	U	±	0
Vagina	±	0	1	±	2	1

Sporenlose Bakterien: Gram-negative

Ort	Bacteroides	Fusobacterium	Vibrio	Kokken grampos.	Kokken gramneg.
Haut	0	0	0	1	0
Oberer Respirationstrakt	1	1	1	1	1
Mund	2	2	1	2	2
Intestinum	2	1	±	2	1
weibl. Genitale	1	1	0	1	0
Urethra	1	1	±	±	U
Vagina	1	±	1	1	1

Symbole: U = unbekannt 0 = kein Vorkommen ± = irregulär
1 = regelmäßiges Vorkommen 2 = starkes regelmäßiges Vorkommen

Da diese Keime an ihrem natürlichen Standort sehr häufig vorkommen, aber nicht immer eine Erkrankung hervorrufen, müssen sie als fakultativ pathogen angesehen werden.
Clostridien kommen ubiquitär im Boden und in den Faeces von Mensch und Tier vor.
Die Bedeutung des normalen Standortes der Keime liegt darin, daß die meisten aneroben Infektionen in der Umgebung anaerobiertragender Schleimhäute lokalisiert sind. Das Eindringen dieser Keime erfolgt durch direktes Einwandern, Trauma oder disseminiert über eine Sepsis.

e. Pathogenese und Prädisposition

Pathogenetisch bedeutsam für das Angehen einer Anaerobierinfektion ist eine herabgesetzte Sauerstoffspannung im Gewebe; eine normale O_2-Spannung ist ein guter Schutz (117,118). Prädisponierend wirken hier schlecht durchblutete Wunden, Fremdkörper, Gefäßleiden, Diabetes mellitus, Malignome und Schock (117,118). Eine Anaerobier-wirksame Chemotherapie kann durch Selektionierung ebenfalls eine anaerobe Infektion begünstigen (25,75,79,88). Die Therapie mit Corticosteroiden und Immunsuppressiva untergräbt die körpereigene Abwehr und ist somit auch ein begünstigender Faktor (117,118).

f.Diagnostik

Der Verdacht auf eine durch Anaerobier hervorgerufene Infektion ist immer gegeben, wenn sich fötider Eiter, septische Thrombophlebitis, brauner, fötider Auswurf, negative aerobe Blutkulturen z.B. bei einer Endokarditis, gleichzeitige Malignome und eine hochgradige Leukozytose finden. Verdächtig ist auch eine erfolglose Therapie mit Aminoglykosiden und bestimmte Lokalisationen, wie Peritonitis, perityphlitischer Abszeß, Pyosalpinx u. a. (117, 118).
Die Sicherung der Diagnose eines Anaerobierinfektes ist bis heute nur kulturell möglich (73, 118).
Geeignetes Untersuchungsmaterial sind: Blut, Eiter, Liquor, Punktate, Bronchialsekret,Zervixsekret, Blasenpunktionsurin, Douglaspunktat, Fruchtwasser, Lochialsekret, Plazentaabstrich, Eihautabstrich, Galle und chirurgisches Material (92,118).

Unter Umständen geeignet sind: Abstriche von Dukubitalgeschwüren und oberflächlichen Wunden, Wunddrainage und Endometriumaspirat (92).
Ungeeignet sind endogen kontaminierte Untersuchungsmaterialien, wie Sputum, Stuhl oder Vaginalsekret (92, 118), Material von bronchoskopischer Spülung, Magenspülung, Urethraileostomie, Nase, Haut, Episiotomie u. a.

Genauso wichtig wie das richtige Untersuchungsmaterial ist die richtige Gewinnung desselben (Tabelle 8).

Tabelle 8: Geeignete Methoden zur Materialgewinnung nach SONNENWIRTH (92)

Lunge:	Perkutane transtracheale Punktion Direkte Lungenpunktion
Pleura:	Thoracozentese
Abszeß:	Punktion mit steriler Spritze aus geschlossenem Abszeß
weibl. Genitaltrakt:	Douglaspunktion, Absaugung von Untersuchungsmaterial aus der Vagina mit Spritze und Katheter nach Vulvadekontamination
Uterus:	
Nasennebenhöhlen und Wunden:	mit Spritze und Katheter so tief wie möglich absaugen

Nach Gewinnung des passenden Untersuchungsmaterials auf die richtige Weise ergibt sich die nächste Schwierigkeit: Transport und Kultur. Hierfür gibt es grundsätzlich drei Möglichkeiten:

1) älter und heute ungebräuchlich: Veillon-Röhrchen (langes Röhrchen mit geschmolzenem Agar, in den die Probe eingegeben wird)
2) neuer und heute gebräuchlich: Anaerobiertöpfe mit Evakuierungs- oder GasPak-System
3) Anaerobierkammer (Raum mit anaerobem Millieu)

Tabelle 9: Routinegerechte Transportmedien und Kulturmedien nach KÜCHLER (48)

Transport: Medium nach Stuart und Amies
(Watteträger im Transportmedium)
Blutkulturflaschen für Aspirate

Nährböden: Blutagar mit oder ohne reduzierende Zusätze

Das einfachste Verfahren zur Materialgewinnung - wenn nichts anderes da ist - ist die sterile Aspiration in eine Glasspritze und deren luftdichter Abschluß, so kann die Spritze auch transportiert werden (85).

Das labortechnische Vorgehen nach Einsendung der Probe geht aus Tabelle 10 hervor.

Tabelle 10: Diagnostik von Bacteroidaceeninfektionen, funktioneller und zeitlicher Ablauf nach WERNER (117)

Untersuchungsmaterial	→	Anaerobes Transport- bzw. Kulturmedium, anaerobes Transportgefäß
Behandelnder Arzt		unverzüglich ins Laboratorium
Vorläufige Therapievorschläge (bei Verdacht auf Bacteroides-fragilis-Infektion keine Aminoglykoside, keine Cephalosporine)	←	Am Einsendetag: anaerobe Kulturen und Gram-Präparat (Verdacht auf Bakteroidazeeninfektion?)
vorläufiges Ergebnis	←	Nach 1-3 Tagen Ergebnis der anaeroben Oberflächenkulturen (mono- oder polymikrobielle Infektion?) Isolierung/Empfindlichkeitsbestimmung
endgültiges Ergebnis	←	Nach 4-12 Tagen: Ergebnis der anaeroben Empfindlichkeitsbestimmung, Ergebnisse von Differenzierungen

Wesentlich für das Gelingen des Keimnachweises ist eine genügende Keimzahl im Material und eine geringe Sauerstoffexposition. Die amerikanische Krankenhausbakteriologie strebt daher die Verarbeitung der Untersuchungsproben in den ersten 10 Minuten an. Bei längeren Transportzeiten müssen geeignete Gefäße und Medien verwendet werden. Die zur Zeit vorgefundenen Transportzeiten in der Routine werden von PELZ mit 28% weniger als 10 Stunden, 43% 10-24 Stunden und 25% mehr als 24 Stunden angegeben (64).
Die Zeitabhängigkeit wird aus einer Gegenüberstellung von KÜCHLER deutlich (48):

	<12 Std.	>12 Std.
Zahl der Proben	25	44
positiver Anaerobiernachweis	11	4

g. Therapie

In der Therapie der Anaerobierinfektionen stehen chirurgische Maßnahmen, wie Wundausscheidung, Wunddrainage, Abszeßdrainage, allgemein die Schaffung aerober Wundverhältnisse, im Vordergrund (27, 85, 117, 118). Bei Inoperabilität, schweren Infekten oder Sepsis tritt die antimikrobielle Chemotherapie hinzu oder steht alleine. Die Wahl des Therapeutikums richtet sich dabei nicht nur nach der Empfindlichkeit des Erregers, sondern auch nach den pharmakokinetischen Eigenschaften und der Toxizität (27).
So ist zum Beispiel mit Lincomycin und Clindamycin kein verwertbarer Liquorspiegel zu erreichen (27, 117).
Tetracycline können im Wachstumsalter nur mit Vorbehalt gegeben werden (117), Chloramphenicol ist toxisch, aber in der für Anaerobier nötigen Dosierung noch tolerabel (5).

Sulfonamide sind insgesamt nicht nützlich;
Penicilline sind das Mittel der Wahl, wenn der Keim empfindlich ist; 42% von 492 von FINEGOLD untersuchten Stämmen wurden von 16 µg/ml Penicillin inhibiert, 10% von 256 µg/ml und mehr (27).
Die verschiedenen Penicilline haben unterschiedliche Wirkungen: Ampicillin, Amoxicillin und Penicillin V sind im wesentlichen

wie Penicillin G wirksam, Methicillin, Nafcillin und Isoxazolylpenicillin sind inkonstanter und schwächer wirksam;
Carbenicillin ist bei Anaerobiern gut wirksam und tötet 95% der Bacteroides-fragilis-Stämme ab;
Cephalosporine sind relativ gut wirksam, zeigen jedoch bei Bacteroides fragilis und Clostridium perfringens hohe Resistenzen;
Tetracycline sind gut wirksam, aber es gibt inzwischen hohe Resistenzraten;
Erythromycin zeigt in vitro gute Ergebnisse;
Chloramphenicol ist pharmakologisch optimal wirksam, es gibt kaum Resistenzen, jedoch ist es relativ toxisch. Es sollte verwendet werden, wenn keine nähere Spezifizierung der Anaerobier möglich ist.
Clindamycin ist gut wirksam, nur bis 2o% Resistenzen bei einzelnen Spezies. Es passiert nicht die Blut-Liquor Schranke.
Metronidazol ist gegen alle Anaerobier von klinischer Bedeutung gut wirksam (15, 22, 97, 98, 102). Bei klinisch erreichbaren Serumspiegeln werden bis auf ein paar anaerobe Kokken alle Stämme gehemmt. Sporenlose grampositive Bakterien sind oft resistent, in der Klinik aber nicht von großer Bedeutung (98). Eine sehr gute Wirkung von Metronidazol bei Anaerobiern wird in vielen Arbeiten beschrieben (22, 27, 97, 102). Auch in vitro fanden sich gute Ergebnisse (13,21,86,102, 108).
Generell läßt sich sagen, daß für alle Bacteroidaceen bei Empfindlichkeit Penicillin G das Mittel der Wahl ist (5, 25, 118, 121, 122, 124). Aber auch Tetracycline, Lincomycin, Clindamycin, Erythromycin, Cloramphenicol und Metronidazol sind gut wirksam (25, 111, 117, 118, 121). Auch bei Peptokokken und Peptostreptokokken sowie Corynebacterium acnes ist Penicillin G das Mittel der Wahl (111, 118). Diese Keime zeigen eine hohe Resistenz gegen Aminoglycoside, wie überhaupt Aminoglycoside gegen Anaerobier unwirksam sind (25,27, 43, 44, 73, 111, 118). In der Klinik nicht anwendbar sind Polymyxine und Sulfonamide (111).

Bacteroides ist gegen Tetracycline, Lincomycin und Metronidazol sowie Chloramphenicol und Erythromycin empfindlicher als gegen

Penicillin G. Alle anderen sporenlosen Anaerobier sind gut penicillinempfindlich (111, 118).
Clostridien sind penicillinempfindlich und metronidazolempfindlich; Tetanus und Gasöden werden ansonsten mit Antitoxinen, chirurgischen und symptomatischen Maßnahmen therapiert (97, 119).
Es ist aber allgemein zu erkennen, daß in der Chemotherapie der Anaerobierinfektionen das Bedürfnis nach Erweiterung der therapeutischen Mittel offensichtlich ist (117).
Ein erfolgversprechender Weg zur Bekämpfung auch schwerer Anaerobierinfektionen ist die Kombination eines anaerobierwirksamen mit einem aerobierwirksamen oder gegen beide wirksamen Antibiotikums (51), zumal, wie oben gezeigt, oft aerob-anaerobe Mischinfektionen vorkommen (54, 81,94,101).

B) Metronidazol

Metronidazol ist ein ausschließlich auf anaerobe Bakterien ansprechendes Antibiotikum (21), das hier, wie oben ausgeführt, sehr gute Ergebnisse zeigt; es ist das einzige Chemotherapeutikum mit konstanter Wirkung auf Bacteroides fragilis, dem bei Anaerobierinfektionen häufigsten und wesentlichsten Keim (60), ist relativ untoxisch, hat nur geringe Nebenwirkungen und ist in klinisch erreichbaren Serumspiegeln gegen den Hauptteil der klinisch relevanten Anaerobier wirksam (27). Metronidazol ist schon seit langem in der Therapie der parasitären Erkrankungen bewährt. Sein Ursprung geht auf das Jahr 1954 zurück, als in den Laboratorien der Rhône-Poulenc 2 - Nitroimidazol als wirksame Substanz in der Bekämpfung von Trichomonaden aus einer Streptomyceskultur isoliert wurde.
1958 begannen klinische Untersuchungen und 1960 erschien Metronidazol auf dem Markt.
Der Wirkungsmechanismus von Metronidazol ist noch weitgehend unbekannt. Es penetriert schnell in die Zelle und wird hier von Ferredoxin oder Flavodoxin reduziert. Die entstehenden Metabolite beschleunigen das Nachströmen von Metronidazol in die Zelle und wirken auf Anaerobier toxisch. Wie schon oben erwähnt, ist

Metronidazol gegen den Hauptteil der in der Klinik relevanten Anaerobier selektiv und in klinisch erreichbaren Serumkonzentrationen wirksam. Beim Gasbrand ist es eine Alternative zum Penicillin (21,60). EYKYN und PHILLIPS bezeichnen es als Mittel der Wahl bei Anaerobierinfektionen (21). Die Toxizität ist gering, gelegentlich kommen gastrointestinale Unverträglichkeit, Granulozytopenie und periphere Neuropathie vor, die jedoch nach Absetzen der Therapie reversibel sind (27).

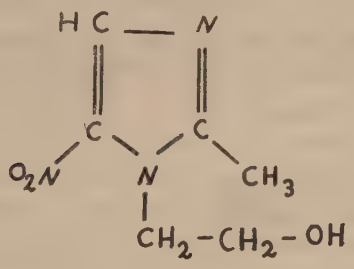


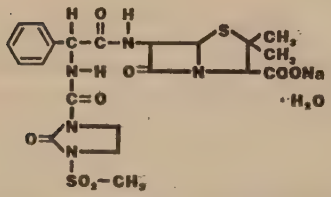
Abbildung 1: Strukturformel von Metronidazol

Metronidazol ist sowohl oral wie intravenös gut applizierbar, wobei intravenös schnell höhere Serumspiegel erreicht werden können (56, 83, 84,104). Die Ausscheidung erfolgt zu 77% über die Niere (frei und metabolisiert)(81,94, 104) und zu 14% über die Faeces (2,81, 108). Die Halbwertzeit im Serum beträgt 6,2 bis 8 bzw. 8,7 Stunden (68,104). Die Plasmaproteinbindung wird unterschiedlich angegeben. TAYLOR et al. geben bis 20% an (103), SCHWARTZ und JEUNET für Serumspiegel von 10 µg/ml 11,2% und für 1 µg/ml 8,1% (81); RALPH und KIRBY fanden keine signifikante Plasmaproteinbindung, die Clearance beträgt 10,2 ml/min/ 1,73 m^2 (68,69). Bei der Niereninsuffizienz fanden CERAT et al. bei einer einmaligen Metronidazoldosis keine verzögerte Elimination aus dem Blut (12). Metronidazol passiert die Blut-Liquor Schranke gut(27).

C) Mezlocillin

Als Kombinationsantibioticum bietet sich ein Penicillinderivat wegen seines breiten aerobier- und anaerobiererfassenden Wirkspektrums (27) und wegen seiner geringen Toxizität an. Mezlocillin, ein neues, durch Acylierung aus Ampicillin gewonnenes halbsynthetisches Acylureidopenicillin, ist gegen ein weiteres Spektrum von aeroben und anaeroben Bakterien gut wirksam (27).

LODE et al. schreiben dem Mezlocillin günstigere antimikrobielle Eigenschaften als den herkömmlichen β-Lactamantibiotica zu (52). Für SCHACHT ist es über die Breite seines antimikrobiellen Wirkspiegels das zur Zeit wirksamste Penicillin (76).



Chemische Bezeichnung:
6 - R -2 -3 (Methylsulfonyl)- 2 -oxoimidazolidin-1-carboxamidol)- 2-phenylacetamido-penicillansäure-Natrium-monohydrat

Mezlocillin-Natrium-monohydrat

Abbildung 2: Strukturformel von Mezlocillin

Der Wirkungsmechanismus von Mezlocillin entspricht der vom Penicillin hervorgerufenen Murein-Zellwand-Synthesestörung und ist hinlänglich bekannt. Es hat ein breites, gegen Aerobier und Anaerobier gerichtetes Wirkungsspektrum und ist schon in der minimalen Hemmkonzentration (MHK) bakterizid (9).
Es kann nur parenteral verwendet werden, da es nach oraler Gabe kaum resorbiert wird (76).
Die Toxizität ist gering, gelegentlich werden leichte Diarrhöen oder Exantheme beobachtet, die aber nach Absetzen der Therapie reversibel sind (38). Die Ausscheidung erfolgt zu 25% über die Galle (38,76) und zu 53% über die Niere. Die Clearance beträgt

121,5 ml/min/173 m^2, die Halbwertzeit 53,9 ± 9,9 min. nach LODE et al. bzw. 59 min. nach HELWIG et al. (52, 76). Die Plasmaproteinbindung beträgt 3o - 50% (76).

D) Untersuchungsverfahren

Für Resistenzprüfungen in vitro an klinisch relevanten Anaerobierspecies wurden drei verschiedene labortechnische Verfahren durchgeführt:

Der Agardilutionstest ist die allgemein gebräuchliche Standardmethode für die Austestung verschiedener Bakterienstämme auf einem Nährmedium (7,8,15,46, 55, 98, 99).

Der Bouillondilutionstest ist wesentlich aufwendiger, kommt aber den In-vivo-Bedingungen näher. Er wurde bisher nur von wenigen Arbeitsgruppen angewendet (46, 55, 60, 128, 132).

Der Gußplattentest wurde in vier Fällen durchgeführt, entspricht in etwa dem Bouillondilutionstest im festen Medium, ermöglicht aber eine genauere Auswertung durch Auszählung von Einzelkolonien.

Die parallele Durchführung dieser drei Methoden ermöglicht einen Vergleich.

E) Keime

Bei durch anaerobe Bakterien hervorgerufenen Krankheitsprozessen spielt nur ein Teil der Anaerobierspecies eine wesentliche Rolle. Die klinisch wichtigste Keimgruppe bilden Bacteroides-Arten,insbesondere B. fragilis (116,117). Daneben haben auch einige Sphaerophorus und Fusobacterium-Arten (3,23,26,36,115,116,117,130), vor allem S. necrophorus, S. varius,S. freundii, sowie Fusobacterium fusiforme klinische Bedeutung (3, 116, 117).

Auch Peptokokken und Peptostreptokokken sind an anaeroben Infektionen in hohem Maße beteiligt (26,36,67,71,74, 85,87, 100,110, 111, 117, 125, 126).Hier sind Peptococcus variabilis, P. asaccharolyticus, P. prevotii und Peptostreptococcus anaerobius vorherrschend (125, 126).

Zu den von anaeroben grampositiven Sporenbildnern-Clostridien - hervorgerufenen Krankheitsbildern gehören neben den reinen Intoxikationen - Botulismus und Tetanus - auch der Gasbrand, vornehmlich

durch Clostridium perfringens hervorgerufen, und erst seit kurzer Zeit bekannt Eiterungsprozesse durch Clostridium sporogenes und Clostridium difficile (23,26,36,127). Clostridium difficile wird neuerdings auch angeschuldigt, für die Entstehung der postantibiotischen pseudomembranösen Colitis verantwortlich zu sein (31,50).

F) Spezielle Fragestellung

In-vitro-Untersuchungen von Bacteroides-Arten mit der Kombination Mezlocillin - Metronidazol wurden von KNEBEL vorgegelegt(45).Aufgabe dieser Arbeit ist es, die In-vitro-Zusammenwirkcharakteristik von Mezlocillin und Metronidazol auf weitere klinisch wichtige anaerobe Keime, also Sphaerophorus necrophorus, S. varius, S. freundii, Fusobacterium fusiforme, die oben näher bezeichneten Peptococcus- und Peptostreptococcus-Species, Clostridium perfringens, Clostridium sporogenes und Clostridium difficile zu untersuchen.
Eine positive Beurteilung der Zusammenwirkcharakteristik von Mezlocillin und Metronidazol würde neue Möglichkeiten in der Therapie der Infektionen durch anaerobe Bakterien eröffnen und eine wirksamere Behandlung der Anaerobierinfektionen, vor allem der häufigen aerob-anaeroben Mischinfektionen erlauben.Als Beurteilungsparameter soll die in vitro gefundene kombinierte Keimwachstumshemmung der beiden Antibiotica, d.h., Indifferenz, Synergismus oder Antagonismus, dienen.

II Material und Methoden

A) Stämme

Die Untersuchungen wurden an Stämmen der Species Sphaerophorus necrophorus, Sphaerophorus varius, Sphaerophorus freundii, Fusobacterium fusiforme, Peptostreptococcus anaerobius, Peptococcus asaccharolyticus, Peptococcus prevotii, Peptococcus variabilis, Clostridium perfringens, Clostridium sporogenes und Clostridium difficile durchgeführt (Tabelle 11).
Diese Stämme wurden in den klinisch-bakteriologischen Laboratorien des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Bonn aus pathologischem Untersuchungsmaterial isoliert und nach den von WERNER und Mitarbeitern angegebenen Kriterien differenziert (113,114, 126).

Tabelle 11: Herkunft der Stämme

Arbeits-nummer	Stamm-nummer	Species	Untersuchungs-material
1	38/77	Sphaerophorus necrophorus	Eiter-Peritonealabszeß
2	35/77	Sphaerophorus necrophorus	Douglassekret
3	4181/75	Sphaerophorus varius	Rektumtumor-Wundsekret
4	2084/75	Sphaerophorus varius	Duodenalfistel
5	B 928	Sphaerophorus freundii	Stuhl
6	Lille 252	Sphaerophorus freundii	Milzabszeß (Rind)
7	021546/I	Fusobacterium fusiforme	Kieferhöhlenabstrich
8	3772/77	Fusobacterium fusiforme	Pleurapunktat
9	932	Peptostreptococcus anaerobius	Wundabstrich
10	4526	Peptostreptococcus anaerobius	Wundabstrich
11	1838	Peptococcus asaccharolyticus	Eiter
12	9771	Peptococcus asaccharolyticus	Cervixabstrich
13	4266	Peptococcus prevotii	Eiter
14	12732	Peptococcus prevotti	Vaginalabstrich
15	4008/2	Peptococcus variabilis	Vulvaabstrich
16	0168	Peptococcus variabilis	Abszeßpunktat

Tabelle 11 (Fortsetzung)

Arbeits-nummer	Stamm-nummer	Species	Untersuchungs-material
17	018868/76	Clostridium perfringens	unbekannt
18	022333/76	Clostridium perfringens	Blutkultur
19	02011/71	Clostridium sporogenes	Abstrich Bursa omentalis
20	13720/71	Clostridium difficile	Bauchhöhlen-abstrich

B) Nährmedien

Bei den Versuchen wurden als Nährmedien bzw. Nährmedienzusätze verwendet: Hirn-Herz-Dextrose-Medium für den Bouillondilutionstest und zur Keim- bzw. Medikamentenverdünnung, Rosenow-Medium zur Keimanzüchtung und als Keimverdünnungsmedium, Hirn-Herz-Dextrose-Agar für den Agardilutions- und Gußplattentest, Hefeextrakt-Cystein-Blutagar als anaerobe Kontrollplatten und Pepton-Blutagar als aerobe Kontrollplatten; als Zusätze wurden Kälberserum beim Bouillondilutionstest und Hammelblut beim Agardilutionstest verwendet.

Die Zusammensetzungen bzw. Chargen im einzelnen:

1) Hirn-Herz-Dextrose-Medium (HHD-Medium)

Brain heart Infusion (Difco)		37,0 g
Cysteinchlorhydrat		0,3 g
Indikator nach Andrade		10 ml
Aqua dest.	ad	1000 ml
Indikator nach Andrade: saures Fuchsin		0,5 g
auf 100 ml Aqua dest.		

2) Hirn-Herz-Dextrose - Agar 2% (HHD-Agar)

wie 1), jedoch zusätzlich 2o g Bacto Agar (Difco)

3) Rosenow-Medium

Pepton tryptisch		10 g
Rindfleischextrakt		3 g
Glucose		2 g
NaCl		2 g
Cysteinchlorhydrat		0,3 g
Indikator nach Andrade		10 ml
Aqua dest.	ad	1000 ml
Tierhirn		
Marmorpulver		25 g/1000 ml

4) Hefeextrakt-Cystein-Blutagar (anaerobe Platten)

Pepton tryptisch		10 g
NaCl		5 g
Fleischextrakt (Liebig od. Difco)		2 g
Hefeextrakt		5 g
Cysteinchlorhydrat		0,3 g
Glucose		2 g
Bacto Agar (Difco)		20 g
Aqua dest.	ad	1000 ml

10% defibriniertes Hammelblut (steril)

5) Pepton-Blutagar (aerobe Platten)

Lab. Lamco Powder (Oxoid)		10 g
Pepton (")		10 g
NaCl		5 g
Agar Nr. 3 (")		15 g
Aqua dest.	ad	1000 ml

10% defibriniertes Hammelblut (steril)

Nährmedienzusätze

Kälberseren

Hersteller:	Charge:	gelagert bei
Seromed	810227	- 20 C
Flow Laboratories	19-121-54 (4-051 M)	- 20 C

Hammelblut

lysiert, defibriniert
P. Froschek, Pharm. Lab. Charge 3156

C) Antibiotica

Als Testantibiotica wurden Mezlocillin und Metronidazol jeweils als Reinsubstanz von der Fa. Bayer verwendet.

	Firma	Charge	Aktivität
Mezlocillin	Bayer	Pt 3813 C	1,07
Metronidazol	Bayer	Pt 348756	-

D) Bouillondilutionstest

Die Versuche wurden mit allen Stämmen (s. Tab. 11) durchgeführt.
Einige Tropfen Keimsuspension wurden in Rosenow-Medium überimpft, mit sterilem Paraffin versiegelt und 2-3 Tage bebrütet. Anschließend wurde auf HHD-Medium überimpft, mit sterilem Paraffin versiegelt und weitere 2 - 3 Tage bebrütet. Gleichzeitig wurden anaerobe Hefeextrakt-Blutagarplatten und aerobe Pepton-Blutagarplatten zur Kontrolle angelegt und ein Gram-Präparat angefertigt. Nach zweimaligem Überimpfen und je 2 - 3 Tagen Bebrütung kann von einer Keimdichte von 10^9 pro ml Medium ausgegangen werden (93).

Für den Hauptversuch wurde mit HHD-Medium eine Keimverdünnung von 1 : 50 hergestellt.
Mezlocillin wurde in HHD-Medium, Metronidazol in Dimethylsulfoxid aufgelöst und dem HHD - Medium zugesetzt. Die Substanzen wurden nach der zu erwartenden Wirksamkeit in je 10 Stufen mit HHD - Medium geometrisch verdünnt.
In jedes Reagenzglas in einem Reagenzglasständer mit 100 Gläsern (10 Reihen zu 10 Gläsern) wurden je 3,5 ml HHD - Medium einpipettiert und danach autoklaviert.
Anschließend erfolgte die Zugabe der Antibiotica-Lösungen, und zwar jeweils in Mengen von 0,5 ml.
Die Mezlocillin-Verdünnungsstufen wurden mit von oben nach unten steigender Konzentration, die Metronidazol-Verdünnungsstufen mit von links nach rechts steigender Konzentration in das Reagenzglas-Schema überpipettiert.

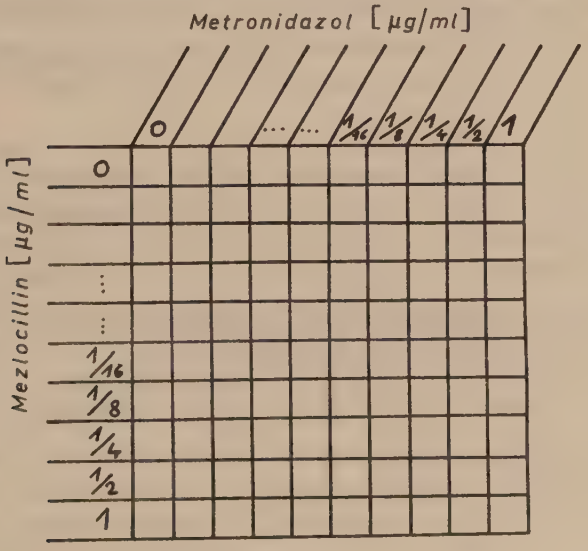


Abb.3: Verdünnungsschema der beiden Antibiotica im Bouillondilutionstest. (1 = volle Konzentration)

Daraufhin wurden jeweils 10 Reagenzgläser (eine Reihe) mit 0,5 ml Keimsuspension beschickt, durch mindestens dreimaliges Aufziehen mit der Pipette gemischt und mit flüssigem Paraffin versiegelt. Nach Abschluß der Beimpfung wurde von der Keimsuspension eine aerobe und anaerobe Oberflächenkultur angelegt und ein Gram-Präparat angefertigt. Der somit fertige Versuchsansatz wurde bei 37° C bebrütet. Als Beurteilungsvergleich dienten nach gleichem Schema hergestellte im Kühlschrank aufbewahrte Kontrollröhrchen.

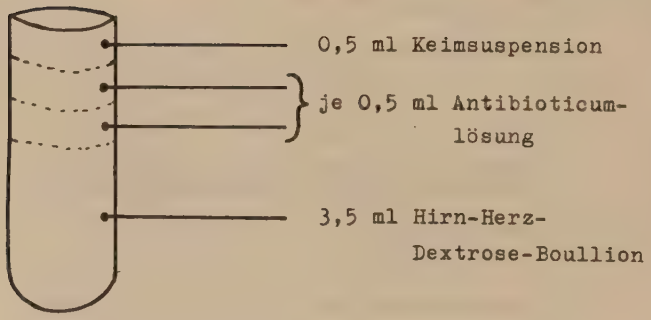


Abb.4: Zusammensetzung des Röhrcheninhaltes beim Bouillondilutionstest.

Dieser Versuchsansatz wurde bei den Stämmen: Sphaerophorus varius 4181 und 2084, Sphaerophorus freundii B 982 und Lille 252, Clostridium perfringens 018868 und 022333, Clostridium sporogenes 02011 und Clostridium difficile 13720 erfolgreich durchgeführt. Bei den anderen Stämmen zeigte sich bei dieser Versuchsanorndung kein befriedigend beurteilbares Wachstum. Aus diesem Grunde wurde bei den Stämmen: Fusobacterium fusiforme 021546/I und 3772, Peptostreptococcus anaerobius 932 und 4526, Peptococcus asaccharolyticus 1838 und 9771, Peptococcus prevotii 4266 und 12732 und Peptococcus variabilis 4008/2 und 0168 die Anzüchtung nach einmaliger Überimpfung auf Rosenow-Medium in Rosenow-Medium wiederholt, und zwar für eine Bebrütung von jeweils 3 Tagen. Im Testansatz wurde nicht wie oben beschrieben 3,5 ml HHD-Medium, sondern nur 3,3 ml HHD-Medium in die Röhrchen gefüllt. Die Keimsuspension wurde nicht verdünnt, sondern in jedes Röhrchen 0,2 ml der angebrüteten Rosenow-Suspension überimpft; zusätzlich wurde jedem Röhrchen 0,5 ml Kälberserum beigegeben. Sonst wurde wie oben beschrieben verfahren.

Auswertung:

Die Auswertung des Bouillondilutionstests erfolgte nach der in den Tabellen angegebenen Bebrütungszeit durch Begutachtung der Trübung bei seitlich einfallendem Licht gegen einen matt-schwarzen Hintergrund. Zum Vergleich dienten die in der Versuchsbeschreibung erwähnten nicht bebrüteten Kontrollröhrchen. Diese erwiesen sich im 2. Teil des Versuchs als besonders wichtig, da durch die Beimpfung mit 0,2 ml der unverdünnten Keimsuspension eine verhältnismäßig starke initiale Trübung vorhanden war.

Röhrchen, die im Trübungsgrad mit den nicht bebrüteten Kontrollröhrchen übereinstimmten, wurden mit - (kein Wachstum) bewertet. Röhrchen, die so stark getrübt waren, daß bei Ablesung in der

obengenannten Technik die dem Betrachter gegenüberliegende Röhrchenwand nicht mehr zu erkennen war, wurden mit ++ (starkes Wachstum) bewertet.
Die dazwischen liegenden Trübungsgrade wurden mit + (Wachstum) gekennzeichnet.
Weitere Hilfen bei der Zuordnung waren Farbänderungen, Bodensatz und Gasentwicklung. In den Abbildungen wurden für - für ++ bzw. + folgende Schraffuren verwendet:

= - = kein Wachstum
= + = schwaches Wachstum
= ++ = starkes Wachstum

Abb.5: Schraffuren im Bouillondilutionstest

E) Agardilutionstest

Dieser Versuch wurde mit allen Teststämmen (s. Tab. 11) durchgeführt. Die Stämme wurden 2 x nacheinander auf Rosenow-Medium überimpft, mit sterilem Paraffin versiegelt und jeweils 2-3 Tage bebrütet. Wachstums- und Reinheitskontrollen erfolgten wie unter IId beschrieben. Am Versuchstag wurde 0,1 ml Keimsuspension in 5 ml Rosenow-Boullion (ohne Hirn und Marmorpulver) verdünnt (Keimverdünnung 1 : 50).Mezlocillin wurde in gepufferter physiologischer NaCl, Metronidazol zunächst in Dimethylsulfoxid aufgelöst und dann in NaCl-Lösung verdünnt und je eine geometrische Verdünnungsreihe mit 16 bzw. 19 Abstufungen hergestellt.

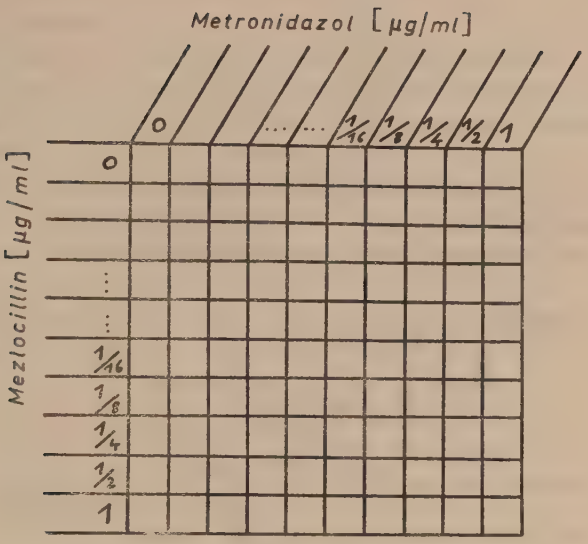


Abb.6: Verdünnungsschema der beiden Antibiotica im Agardilutionstest.
(1 = volle Konzentration)

In 270 Reagenzgläser wurden je 12 ml HHD-Agar 2%ig abgefüllt und autoklaviert. Bei 48°C Wasserbadtemperatur wurden in die mit Agar beschickten Reagenzgläser 1,5 ml, also je 0,75 ml von jeder der beiden Antibiotica-Lösungen, entsprechend dem Verdünnungsschema, und 1,5 ml lysiertes Hammelblut überpipettiert. Die Röhrchen wurden mit einem sterilem Korken verschlossen. Durch mehrmaliges Umkippen wurde der Röhrcheninhalt gemischt und in Petrischalen mit 9 cm Durchmesser gegossen. Die Aufbewahrung bis zum nächsten Tag erfolgte im Kühlschrank. Nach 15minütigem Trocknen der Platten im Brutschrank bei 45°C wurden die oben beschriebenen Keimsuspensionen mit dem Multipointinokulator aufgebracht.

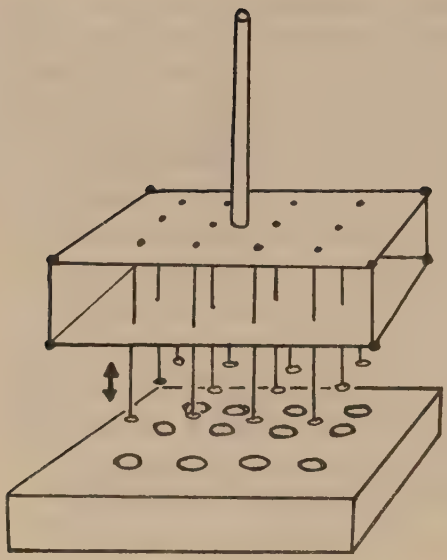


Abb.7: Multipointinokulator;Ösen verschieblich montiert.

Das pro Öse des Multipointinokulators aufgebrachte Volumen beträgt 0,005 - 0,01 ml, so daß von einer Keimzahl von 10^7 bis $0,5 \times 10,^6$ pro Tropfen ausgegangen werden kann. Die Platten wurden 2-3 Tage anaerob in GasPak-Töpfen bebrütet und anschließend ausgewertet. Nach Beimpfung erfolgten Wachstums- und Reinheitskontrollen der Keimsuspension wie in IId.

Auswertung:

Die Auswertung der Platten erfolgte nach den in den Tabellen angegebenen Bebrütungszeiten mit Hilfe einer Lupe. Als Vergleich diente eine nicht mitbebrütete im Kühlschrank gehaltene beimpfte Kontrollplatte. Die auf diese Platte aufgebrachten 16 Keimsuspensionen zeigten sich als ovale bis kreisförmige schwer zu erkennende Fleckchen, bei völlig planer Agaroberfläche.

Alle Inokulate mit diesem Erscheinungsbild wurden mit - (kein Wachstum) bewertet.
Mit ++ (starkes Wachstum) wurden Inokulate gekennzeichnet, die erhabene, die Flächen des Impfpunktes in ihrem typischen Erscheinungsbild (Farbe, Trübung, Oberflächenstruktur, Hämolyse etc.) ausfüllende Kolonien bildeten.
+ (Wachstum) wurden den Inokulaten zugeordnet, die schwache, oft nur bei seitlicher Betrachtung und Gegenlicht zu erkennende, ringförmige oder punktförmige, leicht glasige Erhabenheiten bildeten (Mikrokolonien).
In den Abbildungen wurden für -, für ++ und für + folgende Schraffuren verwendet:

= - = kein Wachstum
= + = schwaches Wachstum
= ++ = starkes Wachstum

Abb.8: Schraffuren im Agardilutionstest

F) Gußplattentest
Diese Untersuchungen wurden an den Stämmen:

Fusobacterium fusiforme 3772, Peptococcus prevotii 12732, Clostridium perfringens 022333 und Clostridium difficile 13720;

vorgenommen. Die Stämme wurden 2 x auf Rosenow-Medium überimpft und anaerob je 2 - 3 Tage bebrütet. Die Kontrollen erfolgten wie in IId und IIe. Am Versuchstag wurde von den Keimen eine Verdünnungsreihe in HHD-Medium angelegt.

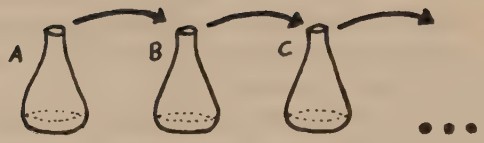


Abb.9: Keimsuspension-Verdünnungsreihe;A = unverdünnte Keimsuspension,B = 1:10 durch Überpipettieren verdünnte Keimsuspension, C: gegen B wieder 1:10 verdünnt,usw.

In kurze Reagenzgläser wurden 2,4 ml HHD-Agar 2%ig abgefüllt und autoklaviert. Metronidazol und Mezlocillin wurden in Dimethylsulfoxid und HHD-Medium bzw. HHD-Medium gelöst und ein Verdünnungsschema von 7 x 7 bzw. 10 x 7 Konzentrationen hergestellt.

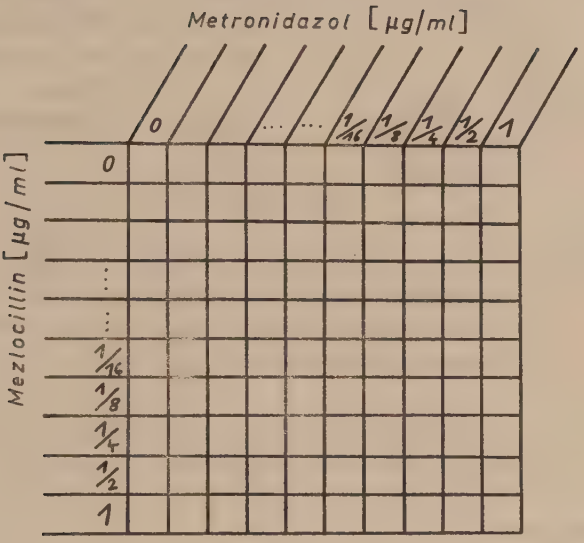
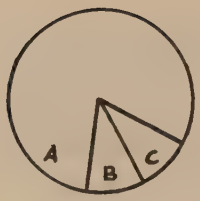


Abb.10: Verdünnungsschema der beiden Antibiotica im Gußplattentest. (1 = volle Konzentration)

Bei 43 - 45° C Wasserbadtemperatur wurde in die mit HHD-Agar beschickten Röhrchen 0,3 ml der Antibioticumlösung und 0,3 ml Keimsuspension gegeben, mit sterilem Korken verschlossen, durch mehrmaliges Umkippen gemischt und in Petrischalen mit einer Grundfläche von 21 cm^2 gegossen. Der Gesamtinhalt der Platte beträgt somit 3 ml.



A: 2,5 ml HHD-Boullion
B: 0,3 ml Antibioticum-lösung
C: 0,3 ml Keimsuspension

Abb.11: Zusammensetzung des Platteninhaltes im Gußplattentest. (Die Sektoren stellen den schematischen Substratanteil dar. Der Platten-inhalt wurde vermischt).

Nach Erstarren des Inhaltes wurden die Schalen in GasPak-Töpfen für 3 - 4 Tage bebrütet und anschließend ausgewertet.

Auswertung:

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Koloniezählgerätes nach den in den Tabellen angegebenen Bebrütungszeiten.
Je nach Koloniedichte wurden entweder die gesamte Platte oder repräsentative Sektoren von 4 cm^2, 1 cm^2 oder 0,2 cm^2 Grundflächen ausgezählt und auf die Plattengrundfläche von 21 cm^2 hochgerechnet.
Höheren Koloniedichten wurden je nach Grad der Platten-trübung Schätzwerte zugeordnet. Da Kolonien bis ca. 6000 pro Platte (2000/cm^3 Platteninhalt) exakt bestimmbar waren, wurde der untere Schätzwert mit 10^4 koloniebildenden Einheiten pro Platte veranschlagt. Der obere Grenzwert wurde mit ungefähr 3×10^7 pro Platte angenommen (3×10^6/cm^3 Platteninhalt), da das Inokulat 1 : 100 verdünnt wurde.
Es wurden also für Keimzahlen über 10^4 Schraffuren in drei Abstufungen (sehr starkes- starkes und weniger starkes Wachstum) sowie für Keimdichten unter 10^4 Zahlen angegeben. Diese Zahlen

wurden, um eine bessere Übersicht zu erreichen, auf die jeweils erste Dezimale auf- oder abgerundet.

= - = kein Wachstum
= + = schwaches Wachstum
= ++ = starkes Wachstum
= +++ = sehr starkes Wachstum

Abb. 12: Schraffuren im Gußplattentest

III Ergebnisse

A) Anaerobe gramnegative Stäbchen (Sphaerophorus- und Fusobacterium-Arten)

1. Sphaerophorus necrophorus 38/77

Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,016 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Diese beiden MHK-Werte änderten sich bei Einwirkung beider Substanzen nach 41 Std. Bebrütung nicht (Abb.13).
Vorherige Ablesungen nach 18 Std. bzw. 25 Std. Bebrütung ließen eine geringfügige Reduktion der MHK für beide Substanzen erkennen.

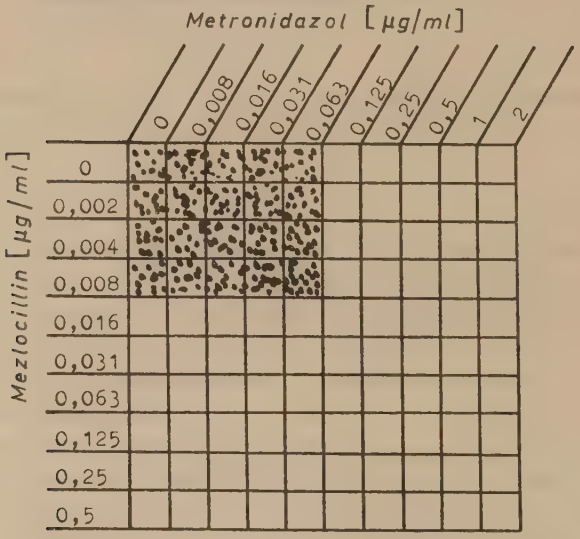


Abb.13:
Testart: Bouillonverdünnungstest
Stamm : Sphaerophorus necrophorus 38/77
abgelesen nach 41 Stunden

Im Agardilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,063 µg/ml und für Metronidazol 0,125 µg/ml. Es fand eine Reduktion beider MHK bei Einwirkung beider Substanzen um eine bis drei Stufen statt (Abb. 14). Abgelesen wurde nach 48 Std. Bebrütung.

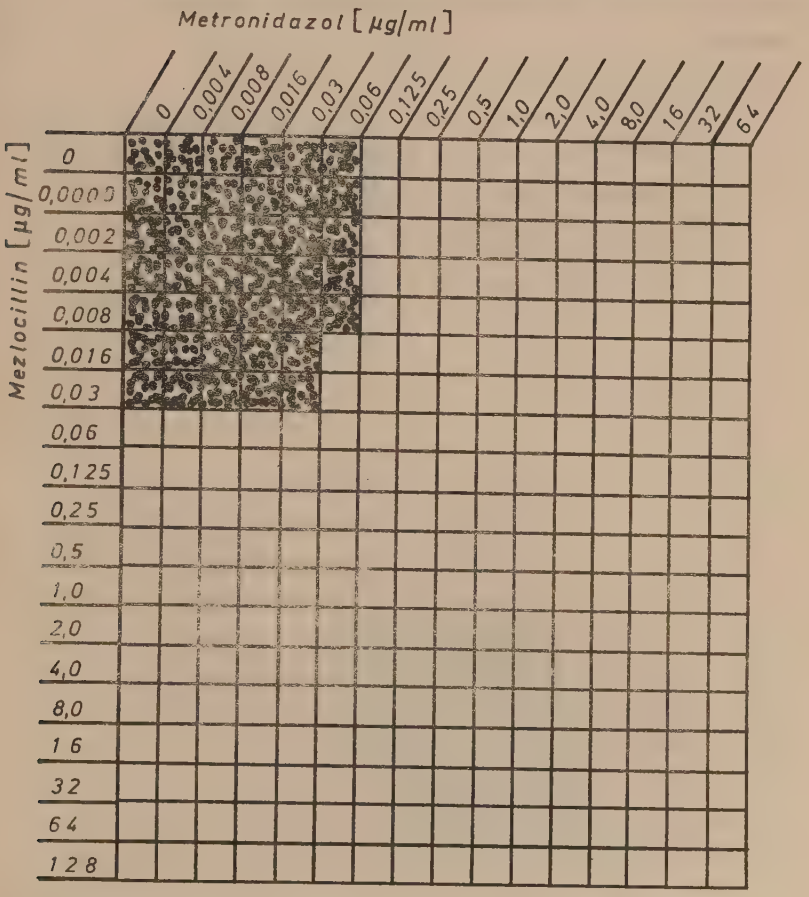


Abb.14: abgelesen nach 48 Stunden

2. Sphaerophorus necrophorus 35/77

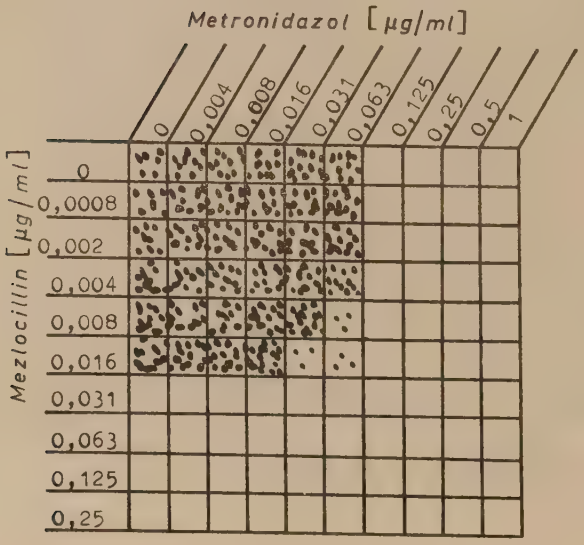
Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,039 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. In kombinierter Einwirkung zeigte sich nach 42 bzw. 68 Std. Bebrütung eine mit der Zeit zurückgehende Reduktion der MHK-Werte. Nach 93 Std. war diese Reduktion nicht mehr zu erkennen (Abb.15).

Abb.15:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Sphaerophorus necrophorus 35/77

abgelesen nach 68 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,063 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen zeigte sich eine Reduktion beider MHK um zwei Stufen (Abb.16). Abgelesen wurde nach 48 Std.

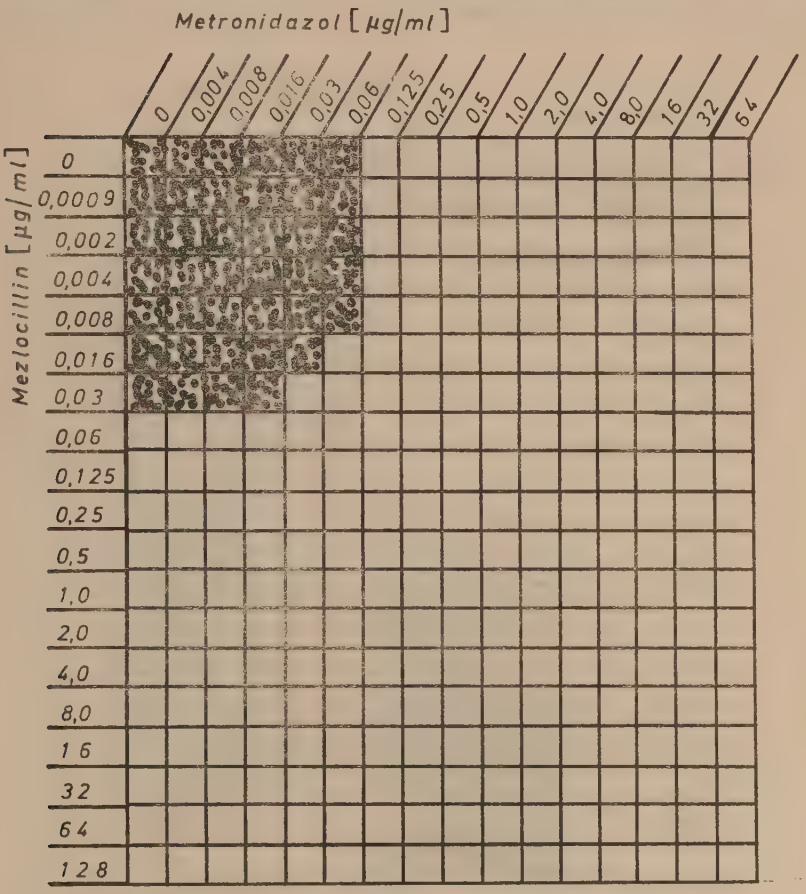


Abb.16: abgelesen nach 48 Stunden

3. Sphaerophorus varius 4181/75

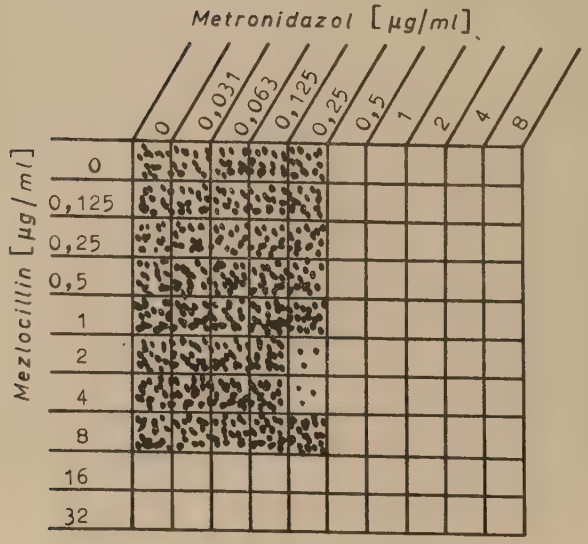
Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 16 µg/ml und für Metronidazol 0,5 µg/ml. Diese MHK-Werte änderten sich auch in kombinierter Einwirkung der Substanzen nach 19 bzw. 24 Std. Bebrütung nicht (Abb.17).

Abb.17:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Sphaerophorus varius 4181/75

abgelesen nach 24 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 128 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Bei Einwirken beider Substanzen war nach 48 Std. Bebrütung ein deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um vier bis fünf Stufen zu verzeichnen. Bei den Mezlocillinkonzentrationen 32 und 64 µg/ml wurden nur noch mikroskopisch kleine, glasige Kolonien beobachtet (Abb.18).

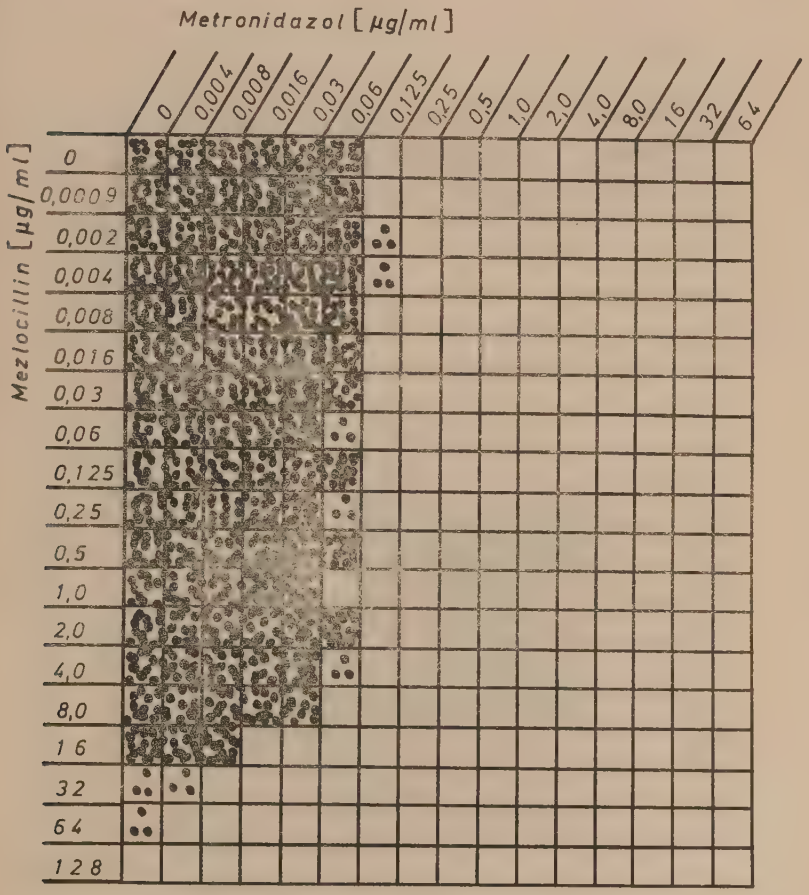


Abb.18: abgelesen nach 48 Stunden

4. Sphaerophorus varius 2084/75

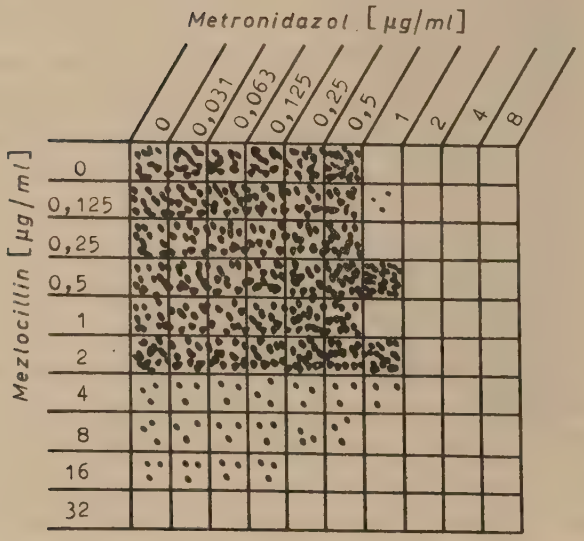
Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 32 µg/ml und für Metronidazol 2 µg/ml. Nach 48 Std. Bebrütung war bei kombinierter Einwirkung der Substanzen eine MHK-Reduktion um zwei bis drei Stufen zu erkennen (Abb.19).

Abb.19:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Sphaerophorus varius 2084/75

abgelesen nach 48 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK nach 48 Std. Bebrütung für Mezlocillin bei 128 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Unter Berücksichtigung der mikroskopisch kleinen Kolonien in den Mezlocillinkonzentrationen 32 bis 128 µg/ml fand eine deutliche MHK-Reduktion um fünf Stufen bei kombinierter Einwirkung der Substanzen statt (Abb.20).

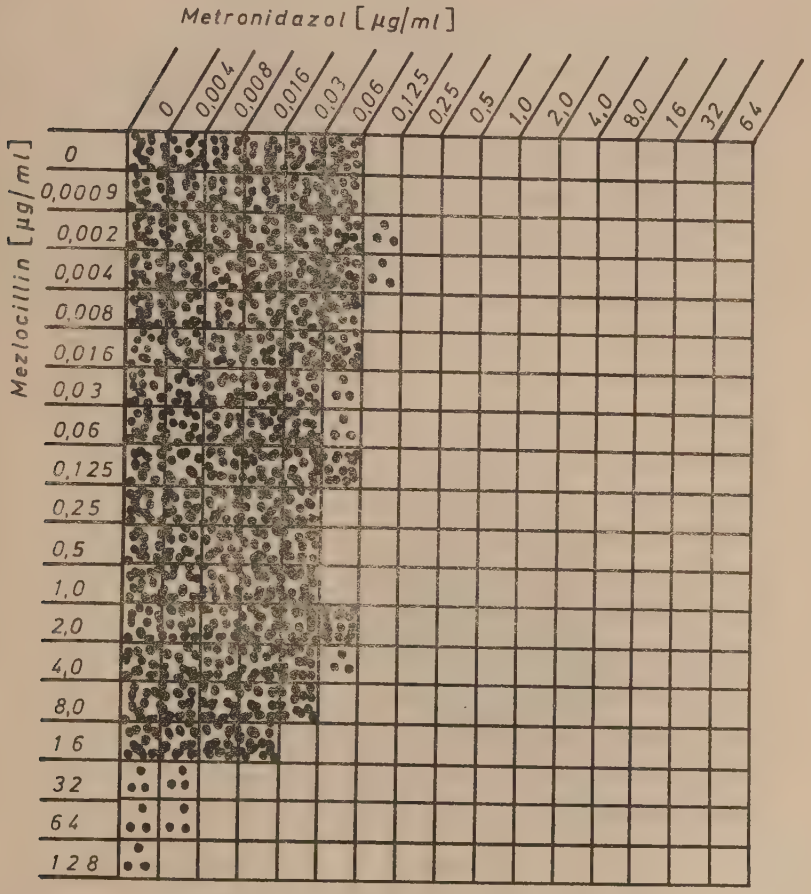


Abb.20: abgelesen nach 48 Stunden

5. Sphaerophorus freundii B 982

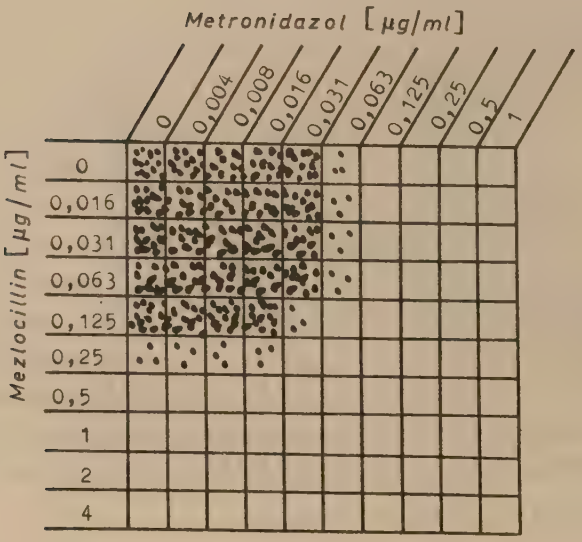
Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,5 µg/ml nach 40 Std. bzw bei 0,25 µg/ml nach 24 Std. und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml nach 40 Std. bzw. 0,063 µg/ml nach 24 Std. Bei Einwirken beider Substanzen fand sich nach 40 Std. Bebrütung eine Reduktion der MHK um zwei Stufen (Abb.21).

Abb.21:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Sphaerophorus freundii B 982

abgelesen nach 40 Stunden



Im Agardilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 1 µg/ml und für Metronidazol 0,125 µg/ml. Bei Einwirken beider Substanzen zeigte sich nach 48 Std. Bebrütung eine deutliche MHK-Reduktion um zwei bis drei Stufen. (Abb. 22).

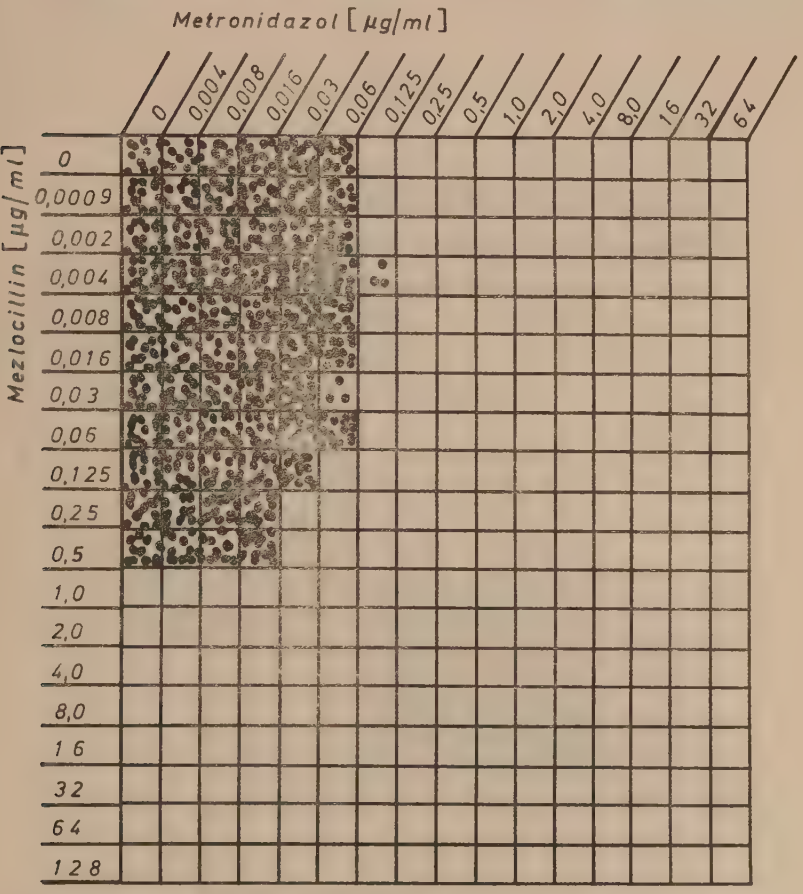


Abb.22: abgelesen nach 48 Stunden

6. Sphaerophorus freundii Lille 252

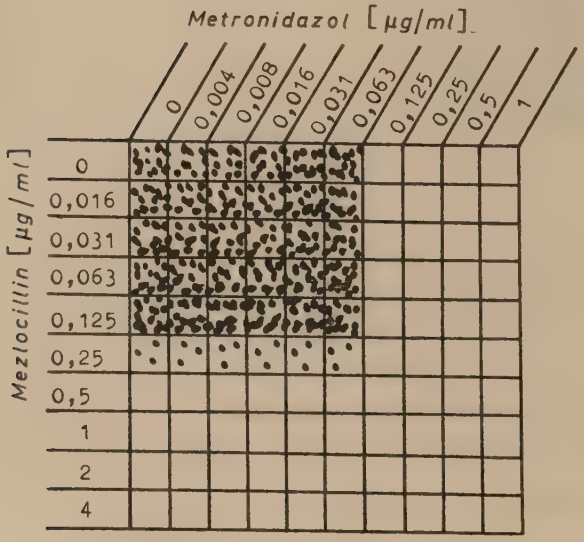
Im Bouillondilutionstest lag die MHK nach 24 Std. Bebrütung für Mezlocillin bei 0,5 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war keine MHK-Reduktion zu verzeichnen (Abb. 23).

Abb.23:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Sphaerophorus freundii Lille 252

abgelesen nach 24 Stunden



Im Agardilutionstest betrug die MHK nach 48 Std. Bebrütung für Mezlocillin 1 µg/ml und für Metronidazol 0,125 µg/ml. Bei Einwirkung beider Substanzen fand, vor allem bei Berücksichtigung der mikroskopisch kleinen Kolonien, in der Metronidazolkonzentration 0,125 µg/ml, eine MHK-Reduktion um ein bis zwei Stufen statt (Abb. 24).

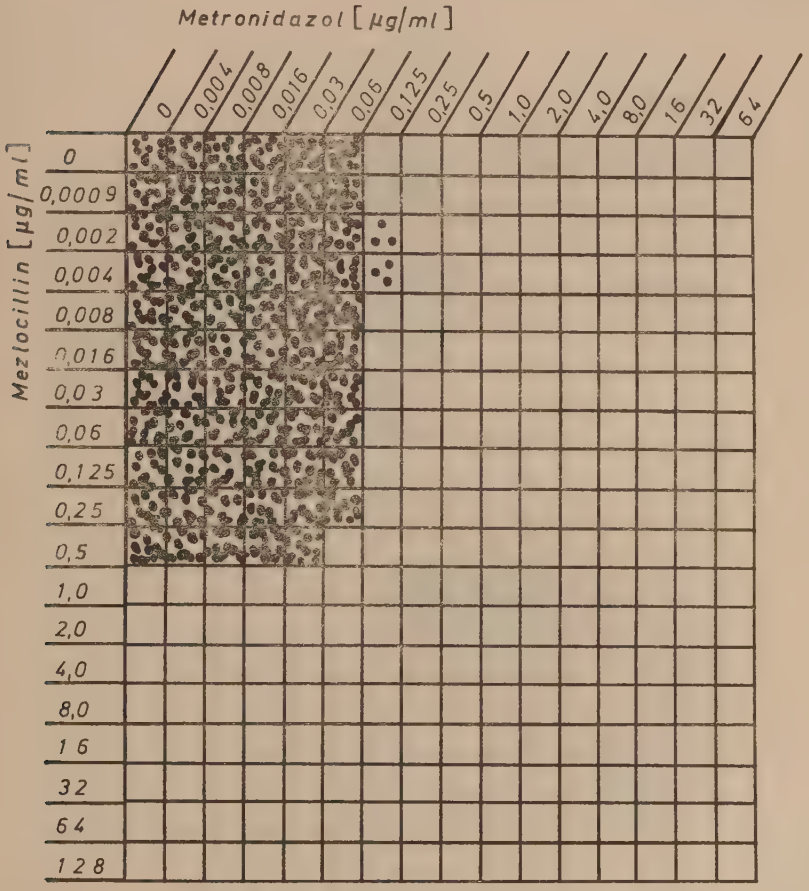


Abb.24: abgelesen nach 48 Stunden

7. Fusobacterium fusiforme 021546/I

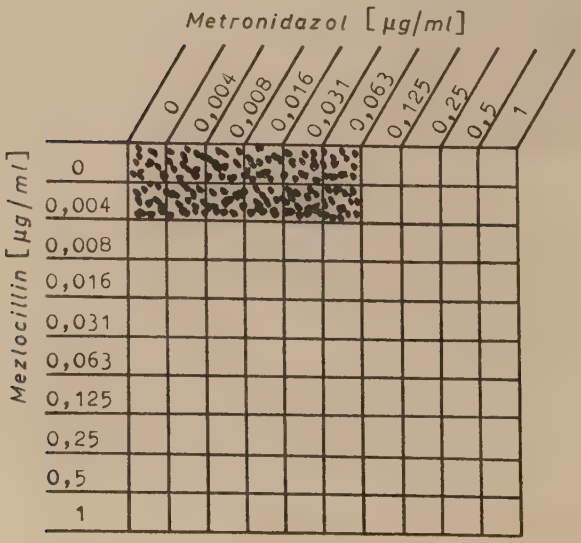
Im Bouillondilutionstest wurde als MHK für Mezlocillin 0,0078 µg/ml und für Metronidazol 0,125 µg/ml ermittelt. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen wurde keine MHK-Reduktion beobachtet. Nach 26 Std. bzw. nach 46 Std. Bebrütung schien sich eine leichte Reduktion zu ergeben, diese verschwand aber nach 67 Std. Bebrütung wieder (Abb.25).

Abb.25:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Fusobacterium fusiforme 021546/I

abgelesen nach 67 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,039 µg/ml und für Metronidazol bei 0,5 µg/ml; in beiden MHK-Konzentrationen waren nur noch Mikrokolonien zu beobachten. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war nach 70 Std. Bebrütung eine MHK-Reduktion um drei bis fünf Stufen zu beobachten (Abb.26).

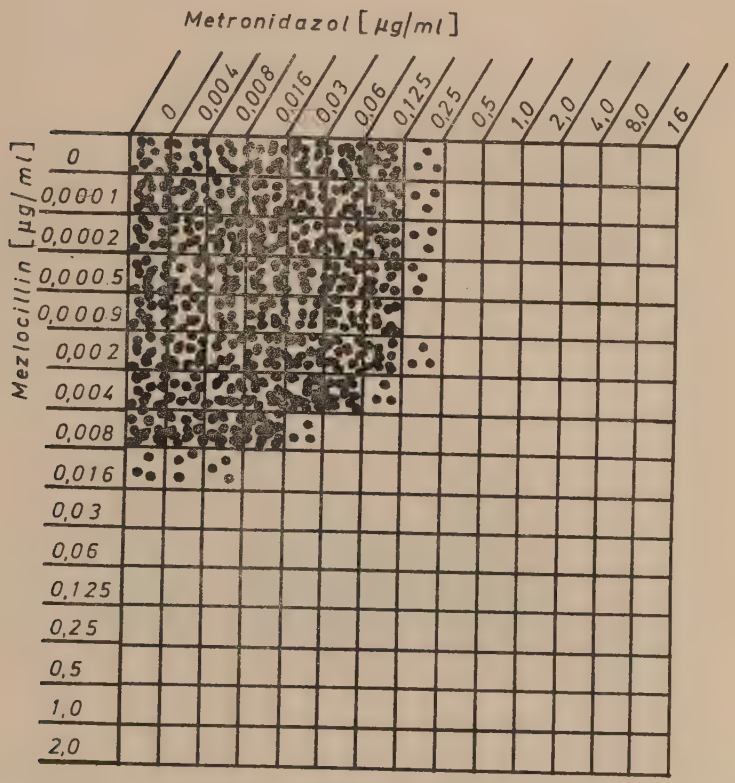


Abb.26: abgelesen nach 70 Stunden

8. Fusobacterium fusiforme 3772

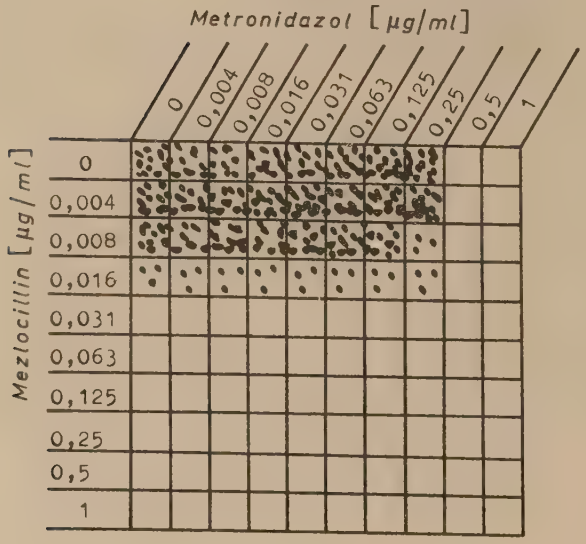
Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,039 µg/ml und für Metronidazol 0,5 µg/ml. Nach 27 Std. Bebrütung zeichnete sich für die gleichzeitige Einwirkung beider Substanzen eine MHK-Reduktion ab, die aber nach 47 bzw. 70 Std. Bebrütung nicht mehr zu beobachten war (Abb.27).

Abb.27:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Fusobacterium fusiforme 3772

abgelesen nach 70 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,5 µg/ml und für Metronidazol bei 0,25 µg/ml. Bei steigenden Antibioticakonzentrationen wurde das Auftreten von Mikrokolonien beobachtet. Bei Einwirkung der Antibiotica in Kombination zeigte sich nach 70 Std. Bebrütung eine MHK-Reduktion um sechs bis sieben Stufen (Abb.28).

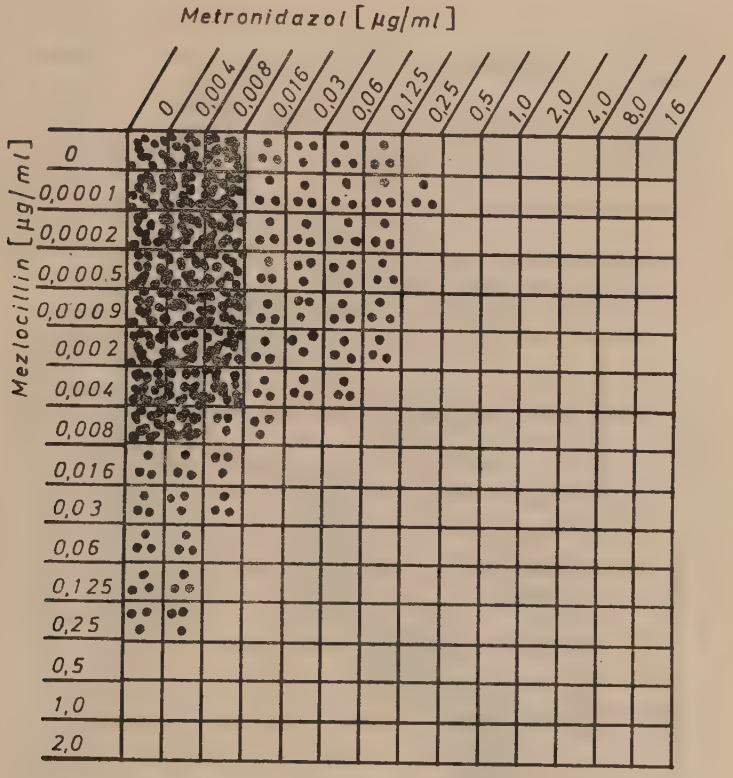


Abb.28: abgelesen nach 70 Stunden

Bei diesem Stamm wurde der Gußplattentest in den Keimverdünnungen 10^8, 10^7, 10^6, 10^5, 10^4 und 10^3 Keime/ml durchgeführt und nach 92 Stunden abgelesen. In der Verdünnung 10^8 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei mehr als 0,063 µg/ml (hier endete der Testansatz) und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war eine sehr deutliche MHK-Reduktion um drei bis vier Stufen (für (++)) zu beobachten (Abb.29).

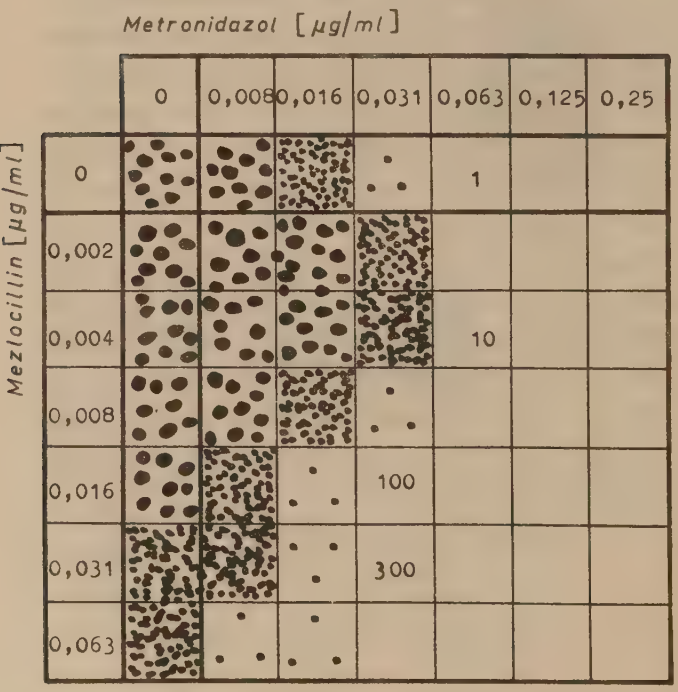
Abb.29:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Fusobacterium fusiforme 3772

abgelesen nach 92 Stunden

Verdünnungsstufe : 10^8 Keime/ml



In der Konzentration 10^7 Keime/ml lag die Mezlocillin-MHK wieder über 0,063 µg/ml, die Metronidazol-MHK bei 0,039 µg/ml. Eine MHK-Reduktion bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war nur noch schwach zu erkennen, da auf Grund zunehmender Wachstumshemmung durch Metronidazol bei niedrigerer Keimdichte nur noch drei Reihen bewachsen waren (Abb.3o).

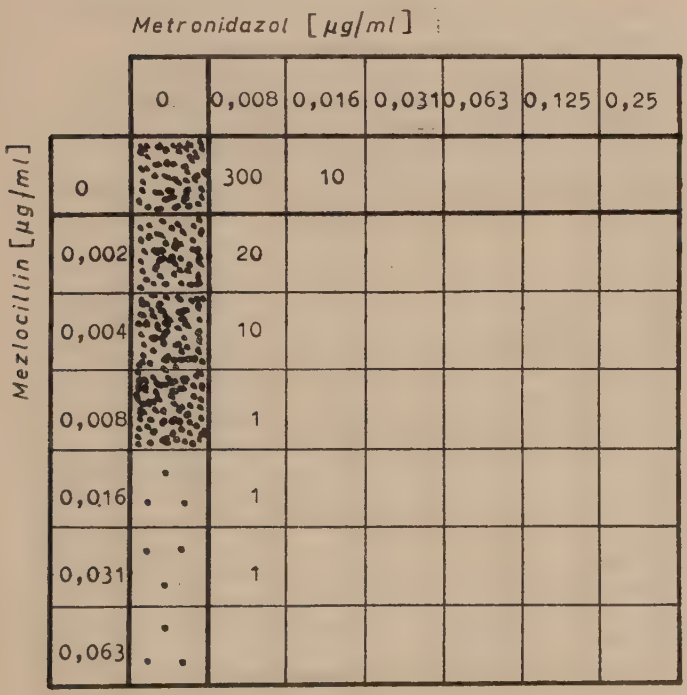
Abb.30:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Fusobacterium fusiforme 3772

abgelesen nach 92 Stunden

Verdünnungsstufe : 10^7 Keime/ml



In der Konzentration 10^6 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei mehr als 0,063 µg/ml, war aber ab 0,031 µg/ml zählbar; die Metronidazol-MHK betrug 0,016 µg/ml. Die Frage einer möglichen MHK-Reduktion war nicht zu beurteilen (Abb.31).

Abb31:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Fusobacterium fusiforme 3772

abgelesen nach 92 Stunden

Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml

Metronidazol [µg/ml]

Mezlocillin [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	∴	1					
0,002	∴						
0,004	∴	10					
0,008	∴	1					
0,016	∴						
0,031	600						
0,063	500						

Die Konzentrationsstufe 10^5 Keime/ml war wegen eines technischen Fehlers nicht zu beurteilen.

In der Konzentration 10^4 Keime/ml betrug die MHK für Mezlocillin mehr als 0,063 µg/ml; ab 0,031 µg/ml waren nur noch einzelne Kolonien zu beobachten; die Metronidazol-MHK lautete 0,016 µg/ml. Die Frage einer MHK-Reduktion bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war nicht zu klären (Abb.32).

Abb.32:
Testart: Gußplattentest
Stamm : Fusobacterium fusiforme 3772
abgelesen nach 92 Stunden
Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	1000	1					
0,002	1000						
0,004	1000						
0,008	700						
0,016	400						
0,031	50						
0,063	10						

In der Konzentration 10^3 Keime/ml entsprach die Mezlocillin-MHK den bei 10^4 Keimen/ml beobachteten Werten; die Metronidazol-MHK betrug 0,008 µg/ml. Eine Reduktion bei kombinierter Einwirkung der Substanzen ließ sich auch hier nicht beurteilen (Abb.33).

Abb.33:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Fusobacterium fusiforme 3772

abgelesen nach 92 Stunden

Verdünnungsstufe 10^3 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	1000						
0,002	700						
0,004	500						
0,008	400						
0,016	100						
0,031	30						
0,063	10						

B) Anaerobe grampositive Kokken

9. Peptostreptococcus anaerobius 932

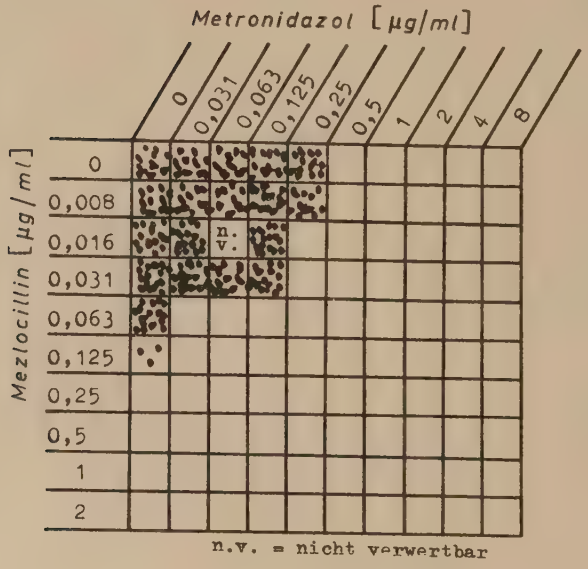
Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,25 µg/ml und für Metronidazol 0,5 µg/ml. Bei kombiniertem Einwirken der Substanzen zeigte sich eine deutliche MHK-Reduktion um vier Stufen nach 47, 78 und 94 Std. Bebrütung (Abb.34)

Abb34:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Peptostreptococcus anaerobius 932

abgelesen nach 78 Stunden



n.v. = nicht verwertbar

Im Agardilutionstest lag die MHK für Metronidazol jensets von 16 µg/ml und somit außerhalb des Testansatzes. Für Mezlocillin lag die MHK bei 1 µg/ml. Bei höheren Mezlocillinkonzentrationen tauchten lediglich Mikrokolonien auf. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war nach 70 Std. Bebrütung eine MHK-Reduktion um drei bis elf Stufen zu beobachten (Abb.35).

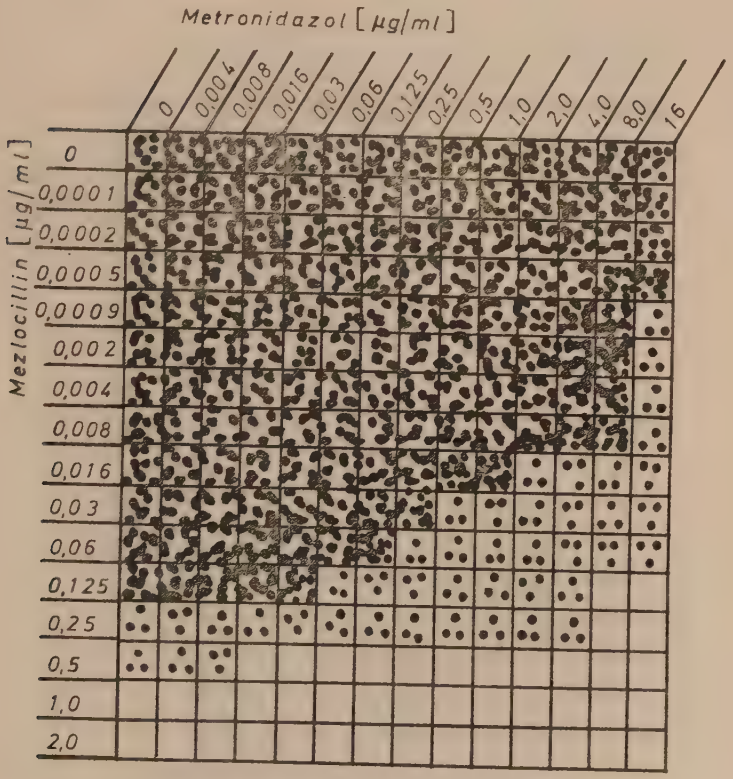


Abb.35: abgelesen nach 70 Stunden

10. Peptostreptococcus anaerobius 4526

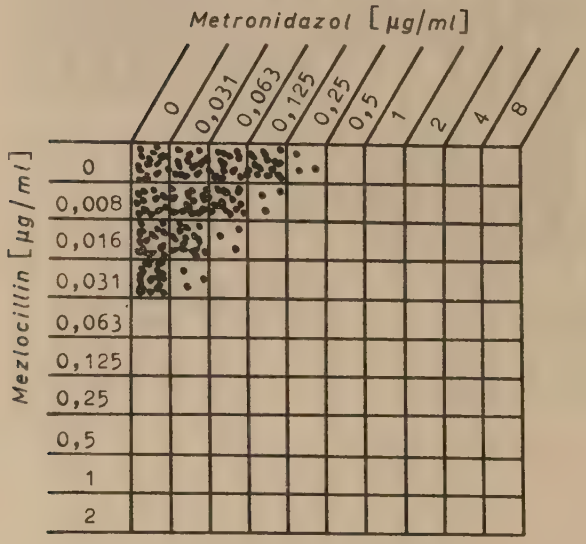
Im Bouillondilutionstest lautete die MHK für Mezlocillin 0,063 µg/ml und für Metronidazol 0,5 µg/ml. Eine deutliche Reduktion der MHK-Werte bei kombinierter Einwirkung der Substanzen um drei Stufen war nach 49 Std. Bebrütung zu beobachten (Abb.36).

Abb.36:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Peptostreptococcus anaerobius 4526

abgelesen nach 76 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 1 µg/ml und für Metronidazol bei 1 µg/ml. Bei kombiniertem Einwirken der Substanzen fand nach 70 Std. Bebrütung eine deutliche MHK-Reduktion um sechs bis zehn Stufen statt. (Abb. 37).

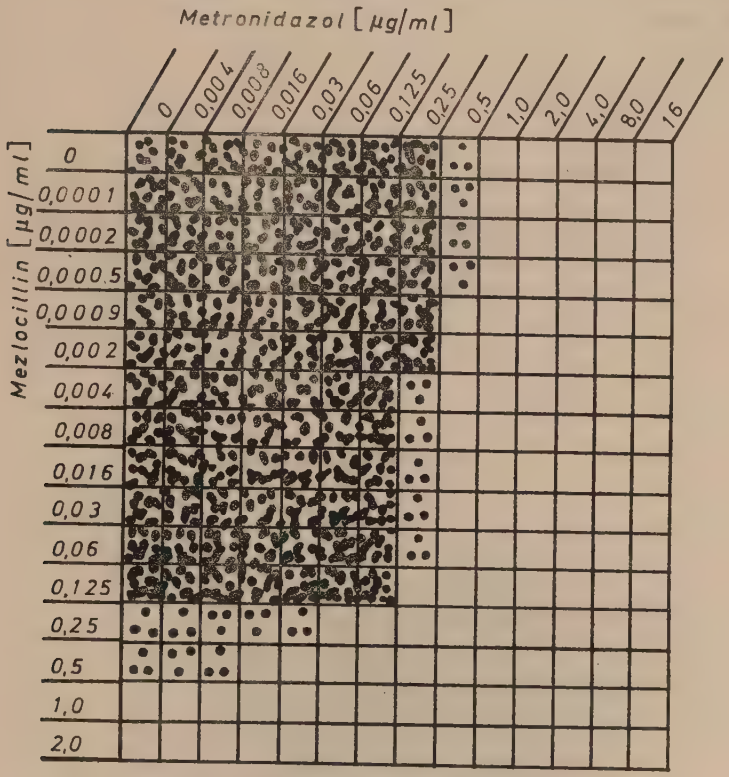


Abb.37: abgelesen nach 70 Stunden

11. Peptococcus asaccharolyticus 1838

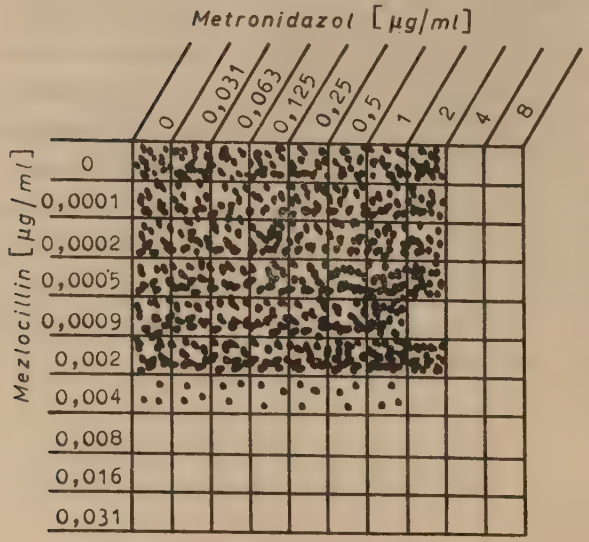
Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,0031 µg/ml und für Metronidazol 4 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war keine deutliche Reduktion der Einzel-MHK-Werte zu beobachten. Dieses Ergebnis wurde im Laufe der drei Ablesungen (29, 53 und 68 Std. Bebrütung) immer deutlicher (Abb. 38).

Abb.38:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Peptococcus asaccharolyticus 1838

abgelesen nach 68 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,008 µg/ml und für Metronidazol bei 1 µg/ml. Nach kombinierter Einwirkung der Substanzen war nach 7o Std. Bebrütung eine geringgradige Reduktion beider MHK um zwei bis drei Stufen zu beobachten (Abb. 39).

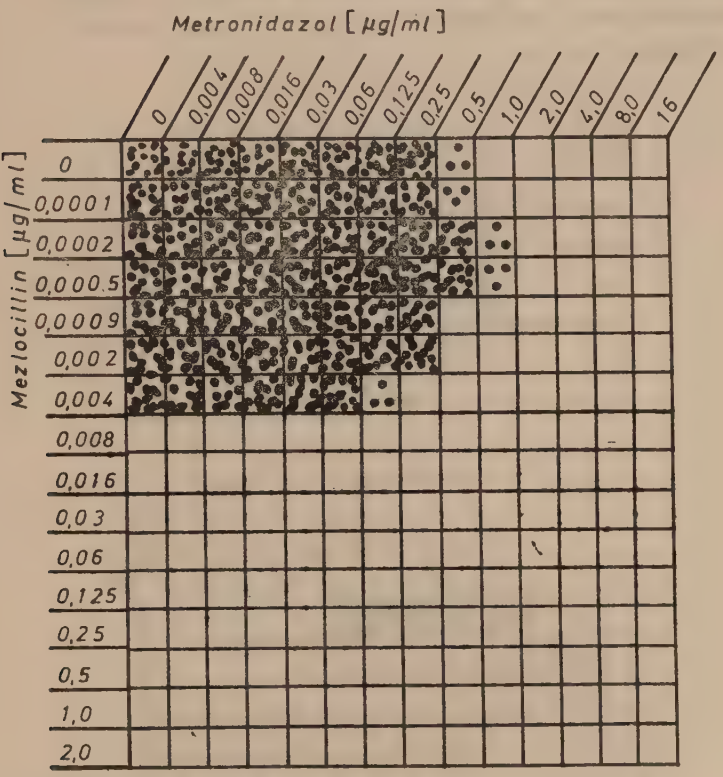


Abb.39: abgelesen nach 70 Stunden

12. Peptococcus asaccharolyticus 9771

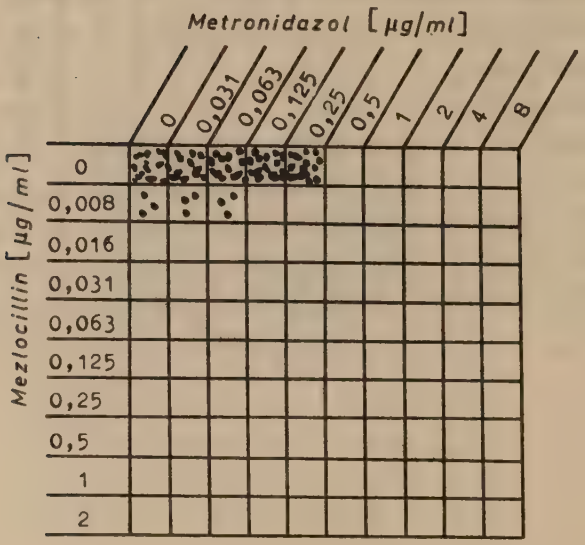
Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,016 µg/ml (es war hier ein deutlicher Bodensatz zu erkennen), für Metronidazol 0,5 µg/ml. Leider waren nur zwei Reihen bewachsen, es ließ sich aber bei kombinierter Einwirkung der Substanzen doch eine MHK-Reduktion um zwei Stufen erkennen. Die Ablesung erfolgte nach 29, 50 und 92 Std. Bebrütung, erst nach 92 Std. war der Ansatz deutlich auswertbar (Abb. 40)

Abb.40:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Peptococcus asaccharolyticus 9771

abgelesen nach 92 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,5 µg/ml und für Metronidazol bei 1 µg/ml. Bei höheren Konzentrationen beider Antibiotica traten nur Mikrokolonien auf. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen zeigte sich eine deutliche Reduktion der Einzelkomponenten-MHK-Werte um sechs bis neun Stufen. Abgelesen wurde nach 70 Std. Bebrütung (Abb. 41).

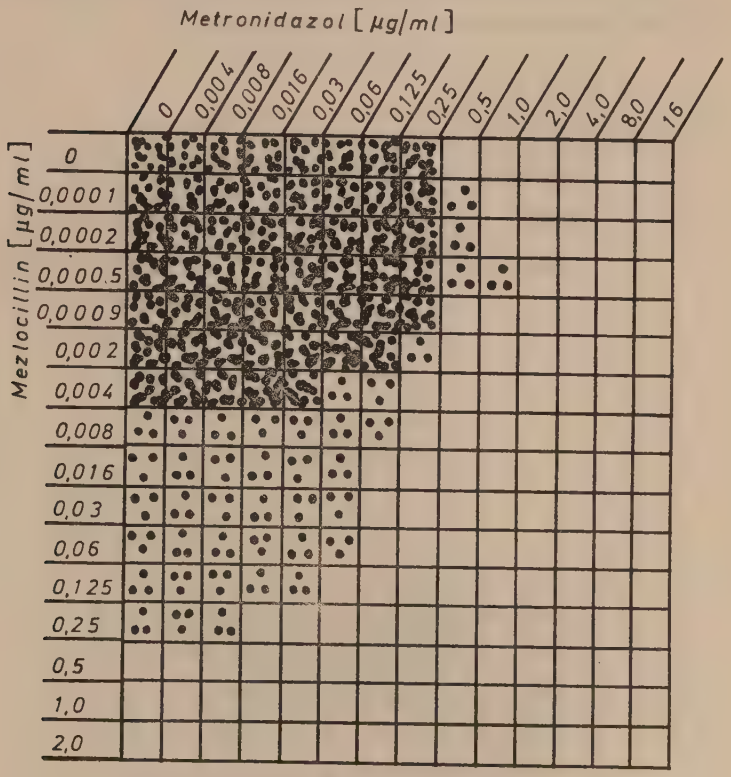


Abb.41: abgelesen nach 70 Stunden

13. Peptococcus prevotii 4266

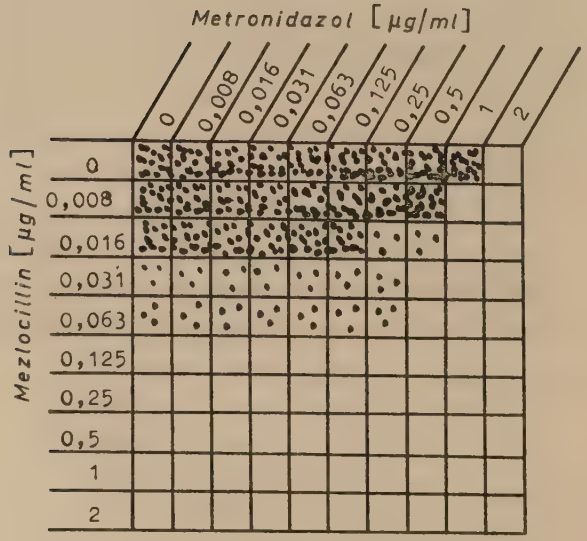
Im Bouillondilutionstest lautete die MHK für Mezlocillin o,5 µg/ml, für Metronidazol 2 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung der Substanzen war eine deutliche Reduktion der MHK-Werte um sechs bis acht Stufen zu beobachten. Es wurde nach 18, 28 und 43 Std. Bebrütung abgelesen, wobei nach 28 bzw. 43 Std. nur noch eine stärkere Trübung bzw. ein Nachwachsen in den Einzelkomponenten zu beobachten war (Abb. 42).

Abb.42:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Peptococcus prevotii 4266

abgelesen nach 43 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,06 µg/ml und für Metronidazol bei 1 µg/ml. Unter Berücksichtigung der bei beiden Antibiotica in höherer Konzentration auftauchenden Mikrokolonien zeigte sich eine deutliche Reduktion der MHK-Werte bei kombinierter Einwirkung der Substanzen um vier bis sechs Stufen. Abgelesen wurde nach 70 Std. Bebrütung (Abb. 43).

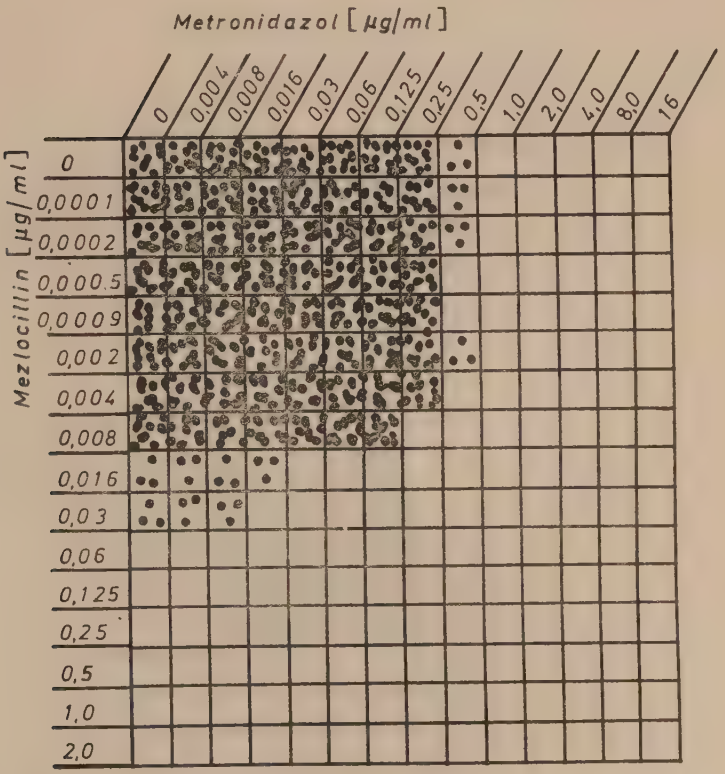


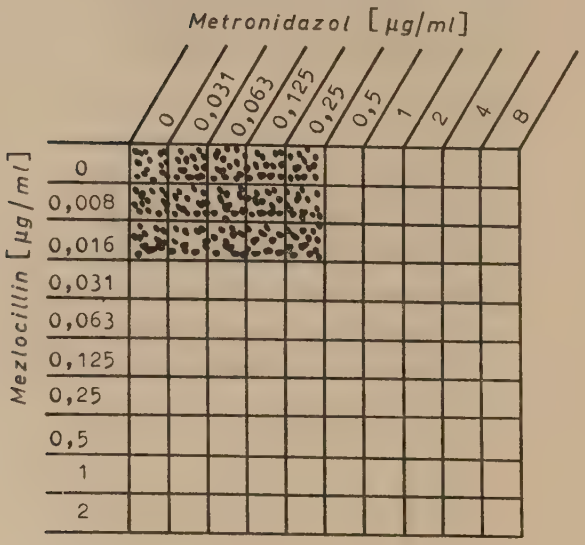
Abb.43: abgelesen nach 70 Stunden

14. Peptococcus prevotii 12732

Im Bouillondilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,03 µg/ml und für Metronidazol 0,5 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung beider Substanzen zeigte sich nach 40 Std. Bebrütung eine geringfügige Reduktion der MHK-Werte, die nach 67 Std. und 94 Std. Bebrütung jedoch nicht mehr zu beobachten war (Abb.44).

Abb.44:

Testart: Bouillondilutionstest
Stamm : Peptococcus prevotii 12732
abgelesen nach 67 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,5 µg/ml und für Metronidazol bei 0,5 µg/ml. In höheren Konzentrationen tauchten sowohl bei Mezlocillin als auch bei Metronidazol Mikrokolonien auf. Es zeigte sich bei kombiniertem Einwirken eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um fünf Stufen. Abgelesen wurde nach 70 Std. Bebrütung (Abb. 45).

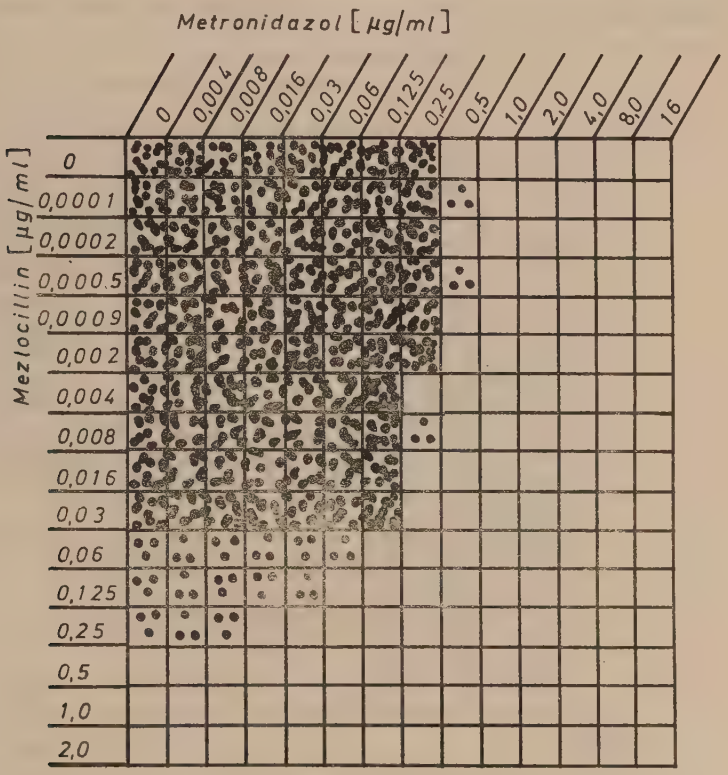


Abb.45: abgelesen nach 70 Stunden

Bei diesem Stamm wurde der Gußplattentest in den Verdünnungsstufen 10^9, 10^8, 10^7, 10^6, 10^5 und 10^4 Keime/ml durchgeführt und nach 96 Std. Bebrütung abgelesen.

In der Verdünnungsstufe 10^9 Keime/ml lag die MHK der Monosubstanzen sowohl für Mezlocillin als auch für Metronidazol jenseits des Testansatzes. Das Wachstum war so stark, daß eine Reduktion der MHK-Werte bei kombinierter Einwirkung nicht zu beurteilen war. Zwei Platten waren kontaminiert und somit nicht auswertbar (Abb.46).

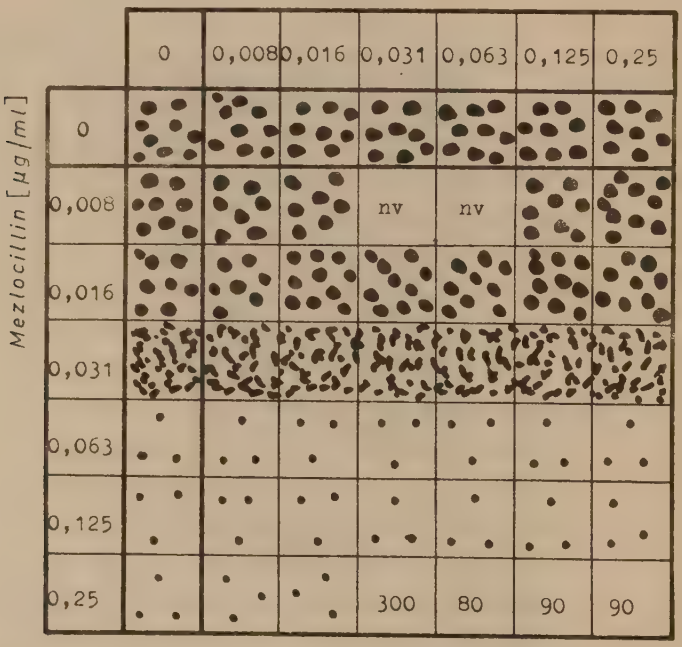


Abb.46:

nv = nicht verwertbar

Testart: Gußplattentest

Stamm : Peptococcus prevotii 12732

abgelesen nach 96 Stunden

Verdünnungsstufe 10^9 Keime/ml

In der Verdünnungsstufe 10^8 Keime/ml lagen die MHK-Werte der Substanzen wieder jenseits des Testansatzes, aber für Mezlocillin war die Keimdichte ab 0,125 µg/ml auszählbar. Bei kombinierter Einwirkung war eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um zwei bis vier Stufen (für (+)) zu verzeichnen (Abb.47).

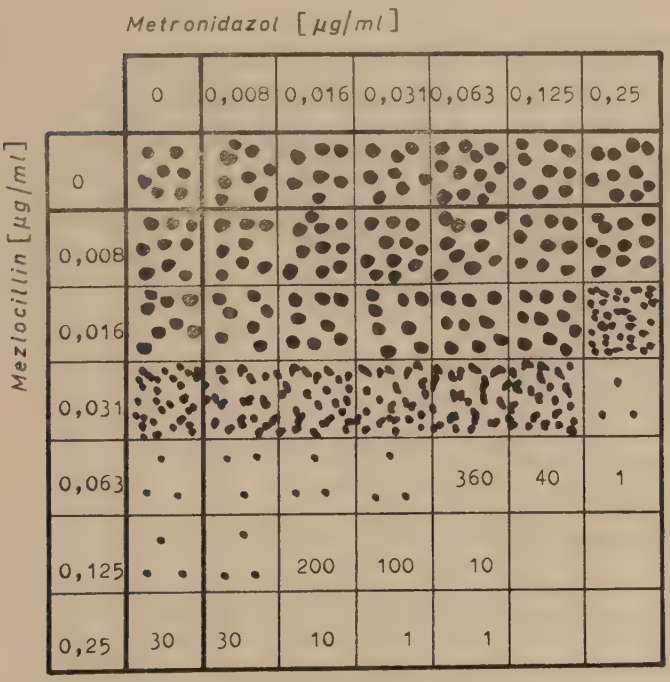
Abb.47:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Peptococcus prevotii 12732

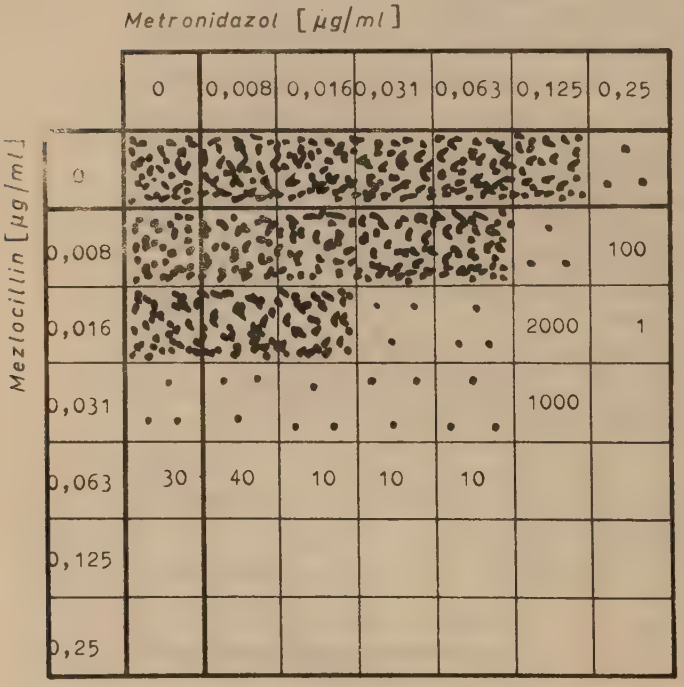
abgelesen nach 96 Stunden

Verdünnungsstufe 10^8 Keime/ml



In der Verdünnungsstufe 10^7 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 0,125 µg/ml und für Metronidazol noch jenseits des Testansatzes. Bei kombiniertem Einwirken war eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen (für (+)) zu beobachten (Abb. 48).

Abb.48:
Testart: Gußplattentest
Stamm : Peptococcus prevotii 12732
abgelesen nach 96 Stunden
Verdünnungsstufe 10^7 Keime/ml



In der Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 0,063 µg/ml und für Metronidazol noch immer jenseits des Testansatzes; ab 0,125 µg/ml war die Keimdichte auszählbar. Bei kombiniertem Einwirken war eine Reduktion beider MHK-Werte um eine Stufe (für (+)) zu erkennen (Abb.49).

Abb.49:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Peptococcus prevotii 12732

abgelesen nach 96 Stunden

Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0						4000	500
0,008						3000	40
0,016					3000	2000	10
0,031	1000	800	500	600	200	30	1
0,063							
0,125							
0,25							

In der Verdünnungsstufe 10^5 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 0,063 µg/ml, für Metronidazol noch immer jenseits des Testansatzes, wobei ab 0,25 µg/ml nur noch einzelne Kolonien zu beobachten waren. Bei kombinierter Einwirkung war eine relativ deutliche Reduktion beider MHK-Werte um zwei bis fünf Stufen für 2000 Keime zu erkennen.

Abb.50:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Peptococcus prevotii 12732

abgelesen nach 96 Stunden

Verdünnungsstufe 10^5 Keime/ml

Metronidazol [µg/ml]

Mezlocillin [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	3000	3000	4000	4000	3000	2000	10
0,008	2000	2000	3000	3000	2000	800	
0,016	2000	1000	1000	1000	400	50	
0,031	200	200	100	100	30		
0,063							
0,125							
0,25							

In der Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml betrug die MHK für Mezlocillin 0,063 µg/ml und für Metronidazol 0,25 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war für beide MHK eine Reduktion zu erkennen, da aber eine Plattenreihe teilweise kontaminiert war, ist eine sichere Bewertung nicht möglich (Abb. 51).

Abb.51:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Peptococcus prevotii 12732

abgelesen nach 96 Stunden

Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml

Metronidazol [µg/ml]

Mezlocillin [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	2000	1000	1000	1000	800		
0,008	1000	1000	1000	800	800	300	
0,016	200	300	nv	nv	nv	nv	nv
0,031	20	30	20	20	1	1	
0,063							
0,125							
0,25							

nv = nicht verwendbar

15. Peptococcus variabilis 4008/2

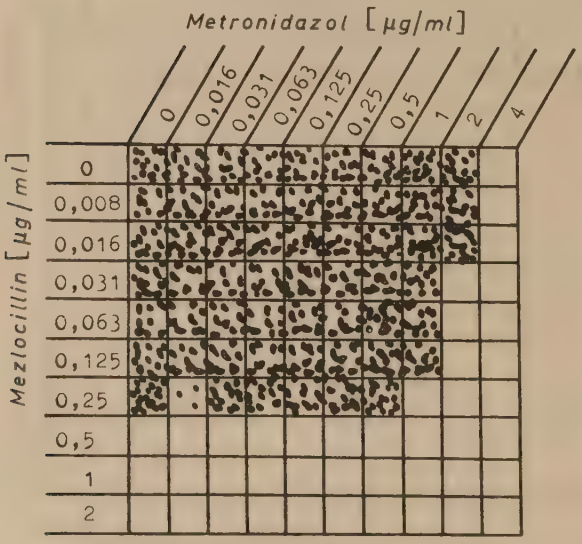
Im Bouillondilutionstest lautete die MHK für Mezlocillin 0,5 µg/ml und für Metronidazol 4 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war nur eine schwache Reduktion beider MHK-Werte um zwei bis vier Stufen zu erkennen; diese wurde im Verlauf von drei Ablesungen nach 21, 45 und 68 Std. Bebrütung etwas deutlicher (Abb. 52).

Abb.52:

Testart: Bou illondilutionstest

Stamm : Peptococcus variabilis 4008/2

abgelesen nach 68 Stunden



Im Agardilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 0,5 µg/ml und für Metronidazol 1 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um sechs bis neun Stufen zu erkennen. Abgelesen wurde nach 70 Std. Bebrütung (Abb.53).

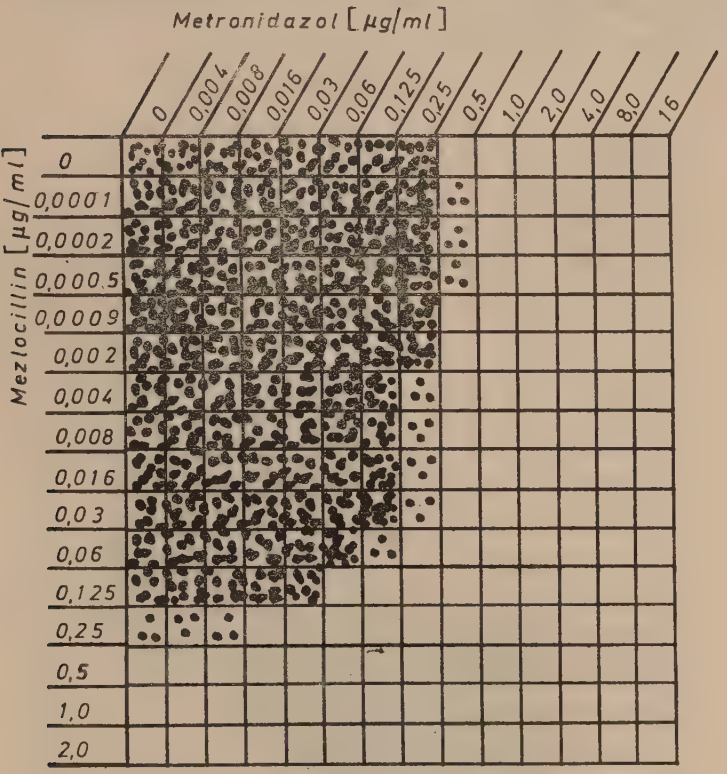


Abb.53: abgelesen nach 70 Stunden

16. Peptococcus variabilis 0168

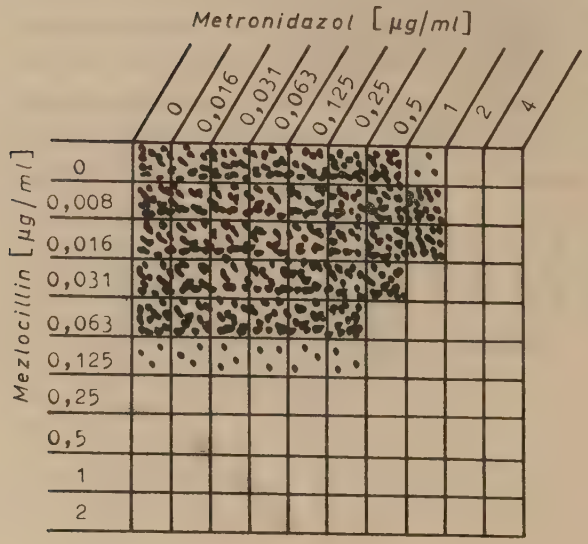
Im Bouillondilutionstest lag die Einzelkomponenten-MHK für Mezlocillin bei 0,25 µg/ml und für Metronidazol bei 2 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung beider Antibiotica war eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen zu beobachten, die im Laufe von vier Ablesungen nach 20, 43, 67 und 91 Std. Bebrütung deutlich hervortrat (Abb. 54).

Abb.54:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Peptococcus variabilis 0168

abgelesen nach 67 Stunden



Im Agardilutionstest lautete die MHK für Mezlocillin 0,5 µg/ml und für Metronidazol 0,25 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung beider Substanzen zeigte sich eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um vier bis fünf Stufen. In höheren Konzentrationen tauchten sowohl bei Mezlocillin als auch bei Metronidazol Mikrokolonien auf. Abgelesen wurde nach 70 Std. Bebrütung (Abb.55).

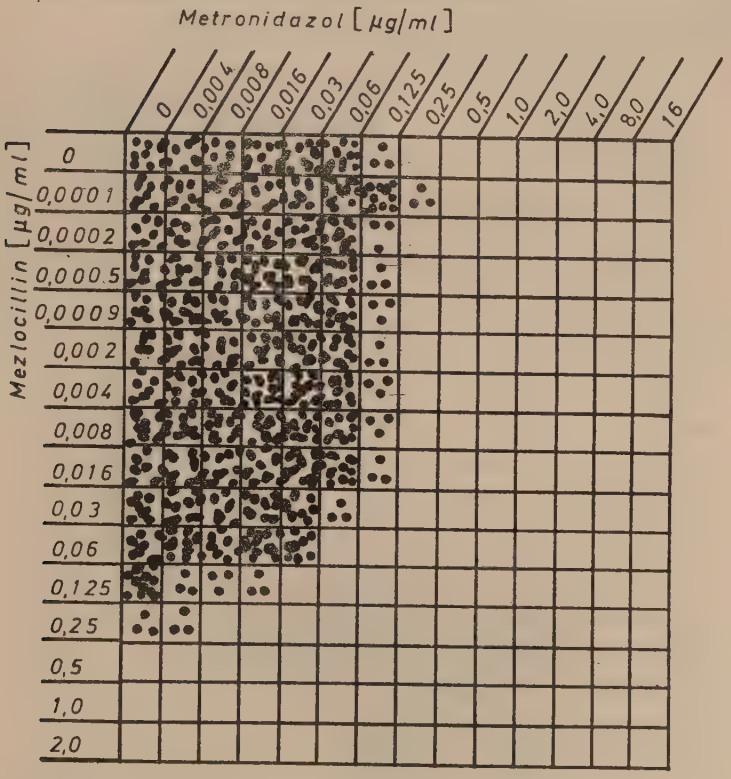


Abb.55: abgelesen nach 70 Stunden

C) Clostridien

17. Clostridium perfringens 018868

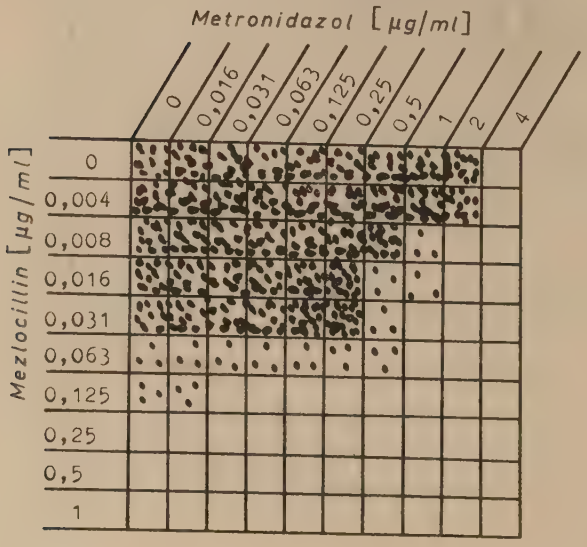
Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,25 µg/ml und für Metronidazol bei 4 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um fünf bis sieben Stufen. Die bewachsenen Röhrchen zeigten eine deutlich gelbe Farbe. Abgelesen wurde nach 24 Std. Bebrütung (Abb. 56).

Abb.56:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Clostridium perfringens 018868

abgelesen nach 24 Stunden



Im Agardilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 4 µg/ml und für Metronidazol 0,25 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich ein sehr deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um vier bis sieben Stufen. Es wurde nach 48 Std. Bebrütung abgelesen (Abb. 57).

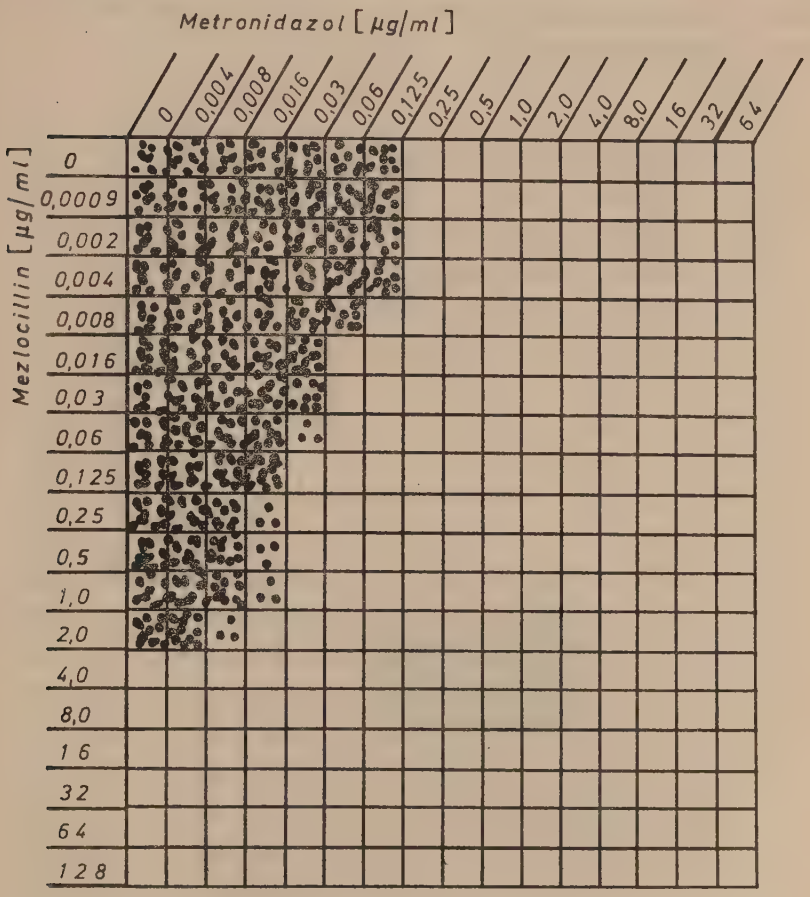


Abb.57: abgelesen nach 48 Stunden

18. Clostridium perfringens 022333

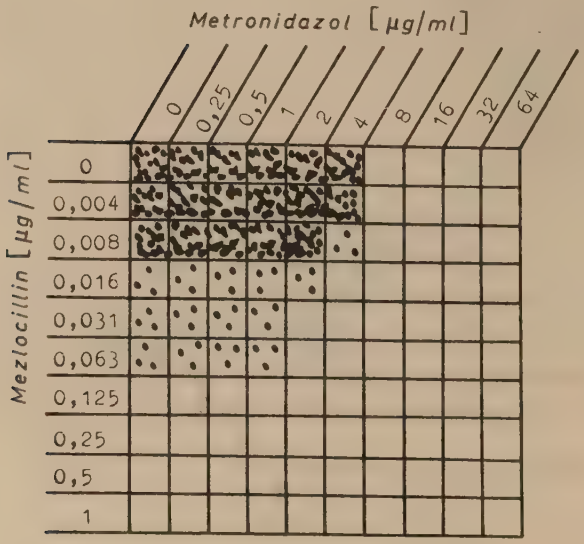
Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 0,125 µg/ml und für Metronidazol bei 8 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war ein deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen zu beobachten. Die bewachsenen Röhrchen waren deutlich gelb getrübt. Die Ablesung erfolgte nach 22 Std. Bebrütung (Abb. 58).

Abb.58:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Clostridium perfringens 022333

abgelesen nach 22 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 1 µg/ml und für Metronidazol bei 0,5 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um vier bis sieben Stufen zu erkennen. Die Ablesung erfolgte nach 48 Std. Bebrütung (Abb. 59).

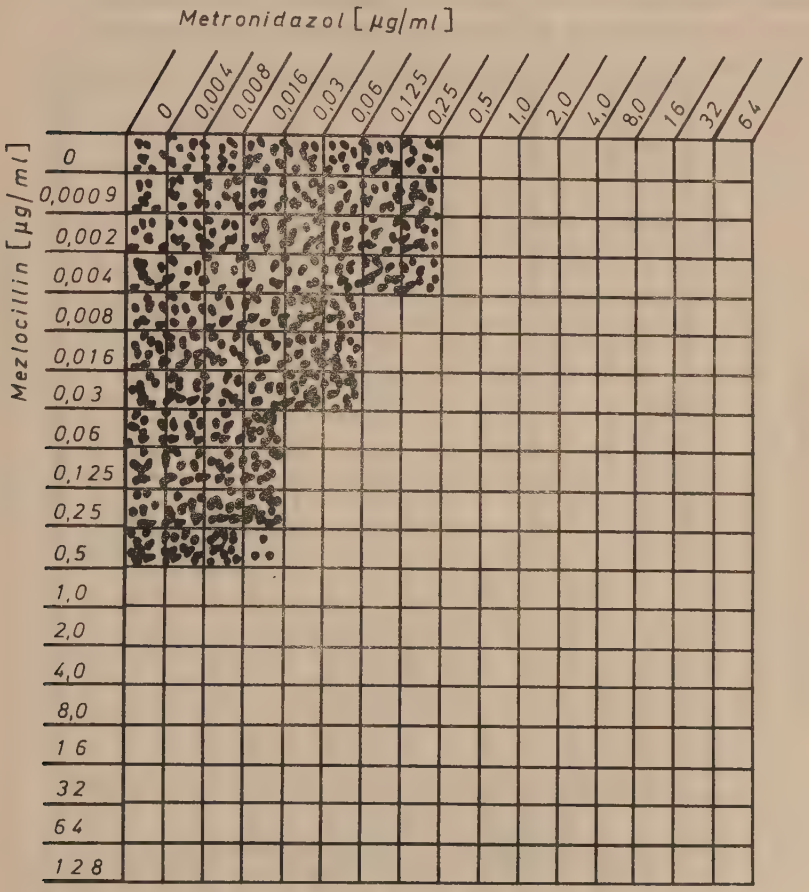


Abb.59: abgelesen nach 48 Stunden

Der Gußplattentest wurde hier in den Verdünnungsstufen 10^7, 10^6, 10^5, 10^4 und 10^3 Keime/ml durchgeführt und nach 72 Std. Bebrütung abgelesen.

In der Verdünnungsstufe 10^7 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 0,03 µg/ml und für Metronidazol bei 0,5 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war ein deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um zwei bis vier Stufen (für mehr als 400 Keime) zu beobachten (Abb. 60).

Abb.60: Testart: Gußplattentest
Stamm : Clostridium perfringens 022333
abgelesen nach 72 Stunden
Verdünnungsstufe 10^7 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4
0	600	600	500	500	400	20				
0,002	40	600	200	100	1	10				
0,004	600	300	200	300	200	1				
0,008	70	200	200	100						
0,016	200	200	200	20						
0,031										
0,063										

In der Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml betrug die MHK für Mezlocillin 0,031 µg/ml und für Metronidazol 0,25 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war ein deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen (für mehr als 100 Keime) zu erkennen (Abb. 61).

Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium perfringens 022333

Metronidazol [µg/ml] abgelesen nach 72 Stunden

Mezlocillin [µg/ml]	0	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4
0	300	300	200	200	100					
0,002	nv	300	300	200	80					
0,004	200	200	200	100	30					
0,008	nv	70	100	70	1					
0,016	10	10	20							
0,031										
0,063										

nv = nicht verwendbar

In der Verdünnungsstufe 10^5 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 0,063 µg/ml und für Metronidazol bei 0,25 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung beider Substanzen war trotz niedriger Keimzahl noch eine Reduktion beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen (für nachweisbares Wachstum) zu erkennen (Abb. 62).

Abb.62:

Verdünnungsstufe 10^5 Keime/ml Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium perfringens 022333

abgelesen nach 72 Stunden

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4
0	20	10	20	10	1					
0,002		10	10	10						
0,004	10	10	10	10	1					
0,008	1	20	1	10	10					
0,016	1	10		1						
0,031	1	1								
0,063										

In der Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml betrug die MHK für Mezlocillin 0,031 µg/ml und für Metronidazol mehr als 4 µg/ml. Bei kombiniertem Einwirken war trotz niedriger Keimzahl eine Reduktion beider MHK-Werte um vier bis fünf Stufen (für nachweisbares Wachstum) zu erkennen (Abb. 63).

Abb.63:

Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium perfringens 022333

abgelesen nach 72 Stunden

Mezlocillin [µg/ml] \ *Metronidazol [µg/ml]*	0	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4
0	20	10	10	1	10	10	1	1	1	1
0,002	1	1	1	10	1	10	1	10	1	
0,004	1	1	1	1	1	10	1	10		
0,008	1	10		1	1	1	1	10		
0,016		10	1	1	1					
0,031										
0,063										

In der Verdünnungsstufe 10^3 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 0,031 µg/ml und für Metronidazol bei mehr als 4 µg/ml. Trotz niedriger Keimzahl war bei kombinierter Einwirkung ein Rückgang beider MHK-Werte um drei bis sieben Stufen (für nachweisbares Wachstum) zu erkennen. (Abb. 64). Zwei Platten waren kontaminiert.

Abb.64:

Verdünnungsstufe 10^3 Keime/ml Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium perfringens 022333

abgelesen nach 72 Stunden

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,0160	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4
0	10	1	30	20	40	10	30		10	10
0,002	nv	10	nv	10	1	20	10		nv	1
0,004	10	1	1	10	1	20	1	10		
0,008	1	10				nv		nv		
0,016	1	10								
0,031										
0,063										

nv = nicht verwendbar

19. Clostridium sporogenes 02011/71

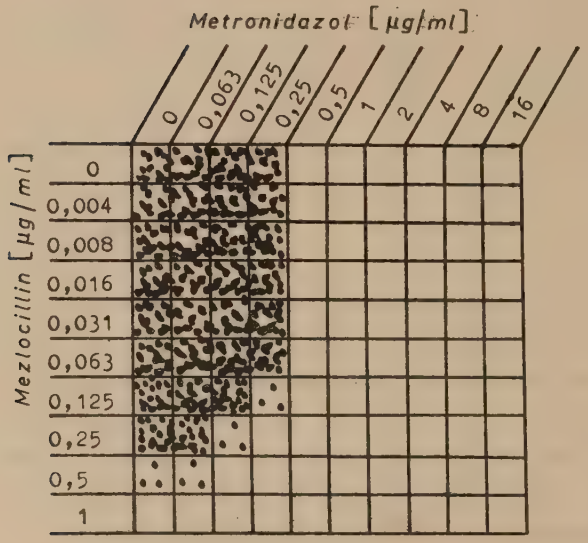
Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 1 µg/ml und für Metronidazol bei 0,5 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war eine Reduktion beider MHK-Werte um zwei Stufen zu erkennen. Es wurde nach 21 Std. Bebrütung abgelesen (Abb. 65).

Abb.65:

Testart: Bouillondilutionstest

Stamm : Clostridium sporogenes 02011/71

abgelesen nach 21 Stunden



Im Agardilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 2 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung beider Substanzen war eine deutliche Reduktion beider MHK-Werte um vier bis sieben Stufen zu erkennen. Es wurde nach 48 Std. Bebrütung abgelesen (Abb. 66).

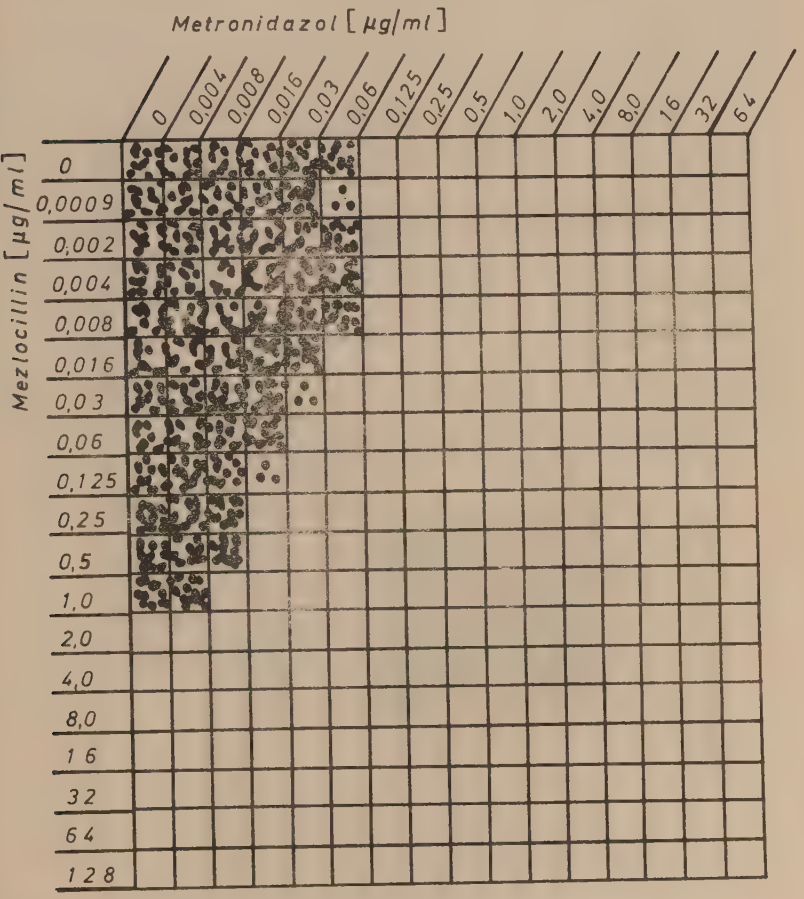


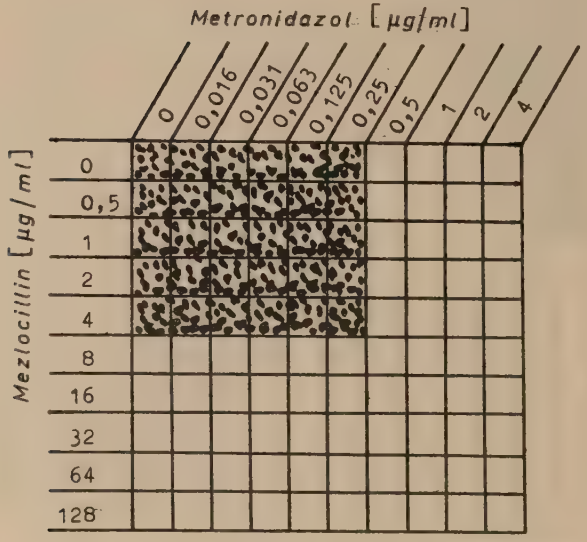
Abb.66: abgelesen nach 48 Stunden

20. Clostridium difficile 13720

Im Bouillondilutionstest lag die MHK für Mezlocillin bei 8 µg/ml und für Metronidazol bei 0,5 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich keine MHK-Reduktion. Abgelesen wurde nach 18, 26, 44 und 50 Std. Bebrütung (Abb. 67).

Abb.67:

Testart: Bouillondilutionstest
Stamm : Clostridium difficile 13720
abgelesen nach 50 Stunden



Im Agardilutionstest betrug die MHK für Mezlocillin 16 µg/ml und für Metronidazol 0,5 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich ein geringgradiger Rückgang beider MHK-Werte um drei bis elf Stufen (nur eine Reihe). Abgelesen wurde nach 48 Std. Bebrütung (Abb. 68).

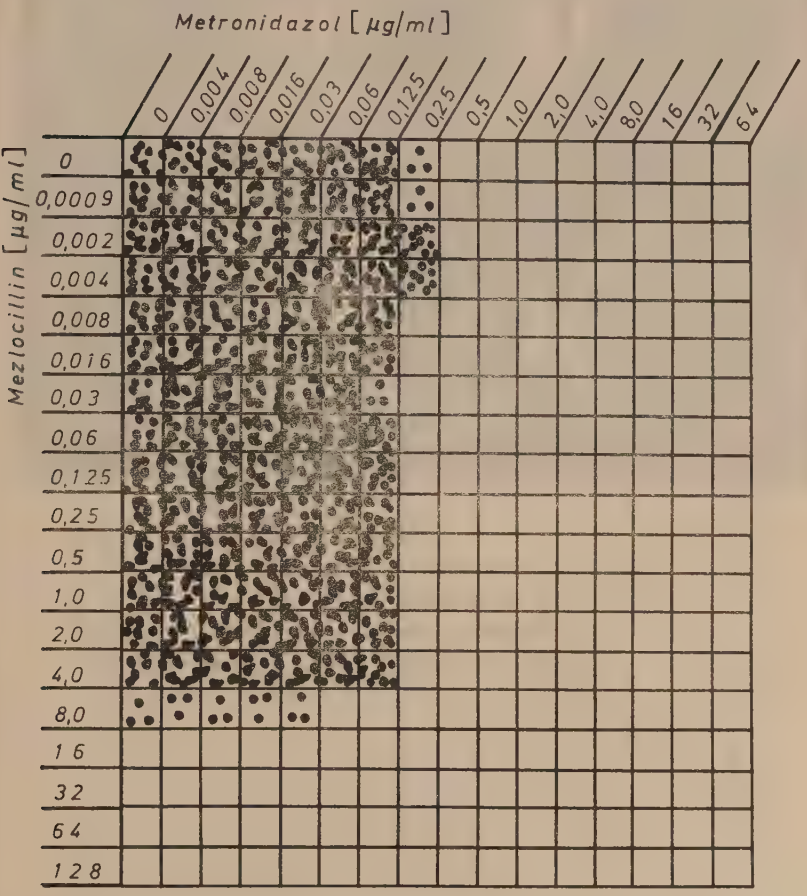


Abb.68: abgelesen nach 48 Stunden

Der hier durchgeführte Gußplattentest wurde in den Verdünnungsstufen 10^8, 10^7, 10^6, 10^5, 10^4 und 10^3 Keime/ml angelegt und nach 72 Std. Bebrütung abgelesen (Abb. 69).

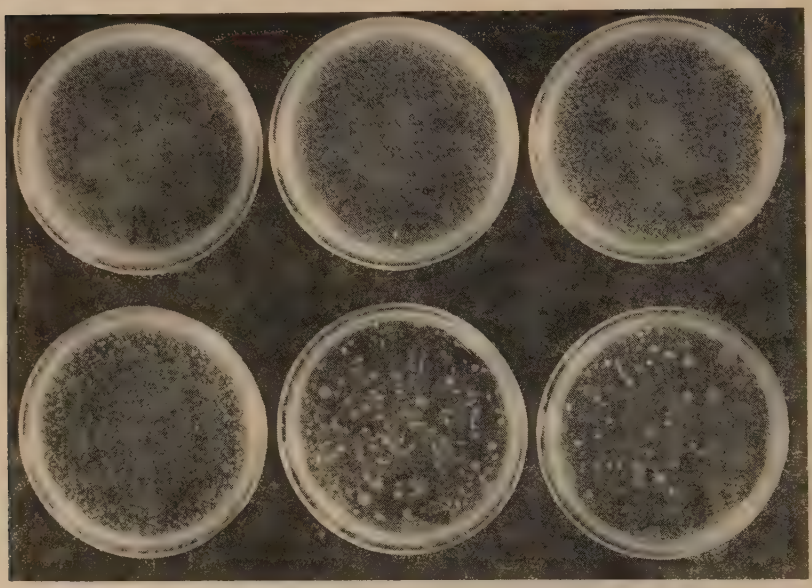


Abb.69: Wachstumsverhalten des Clostridium difficile 13720 im Gußplattentest.
Die Platte links oben zeigt das stärkste, die Platte rechts unten das schwächste Wachstum.

In der Verdünnungsstufe 10^8 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 16 µg/ml und für Metronidazol bei 0,25 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich ein deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen (für (+)) (Abb. 70).

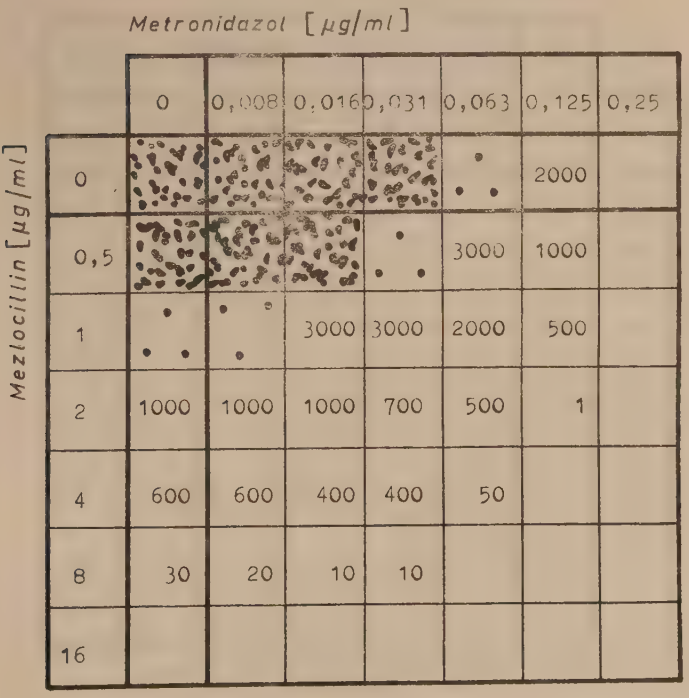
Abb.70:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium difficile 13720

abgelesen nach 72 Stunden

Verdünnungsstufe 10^8 Keime/ml



In der Verdünnungsstufe 10^7 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 16 µg/ml und für Metronidazol bei 0,125 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich ein Rückgang beider MHK-Werte um eine Stufe (für (+)), (Abb.71).

Abb.71:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium difficile 13720

abgelesen nach 72 Stunden

Verdünnungsstufe 10^7 Keime/ml

Metronidazol [µg/ml]

Mezlocillin [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	• • •	• • •	• • •	2000	50	nv	
0,5	• • •	• • •	100	70	10		
1	100	100	100	40	10		
2	100	100	40	30	10		
4	30	10	10	1			
8	1	1					
16							

nv = nicht verwendbar

In der Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml lautete die MHK für Mezlocillin 4 µg/ml und für Metronidazol 0,125 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich ein Rückgang beider MHK-Werte um eine Stufe (für mehr als 1000 Keime), (Abb.72).

Abb.72:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium difficile 13720

abgelesen nach 72 Stunden

Verdünnungsstufe 10^6 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	4000	4000	4000	300	1		
0,5	4000	3000	30	1			
1	30	20	10	1			
2	1	10	1	1			
4							
8							
16							

In der Verdünnungsstufe 10^5 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 1 µg/ml und für Metronidazol bei 0,063 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung zeigte sich ein Rückgang beider MHK-Werte um eine Stufe (für mehr als 100 Keime), (Abb. 73).

Abb.73:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium difficile 13720

abgelesen nach 72 Stunden

Verdünnungsstufe 10^5 Keime/ml

Metronidazol [µg/ml]

Mezlocillin [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	1000	800	600	50			
0,5	300	200					
1							
2							
4							
8							
16							

In der Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 2 µg/ml und für Metronidazol bei 0,063 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung war ein deutlicher Rückgang beider MHK-Werte um zwei bis drei Stufen (für erkennbares Wachstum) zu erkennen (Abb. 74).

Abb.74:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium difficile 13720

abgelesen nach 72 Stunden

Verdünnungsstufe 10^4 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	300	200	100	1			
0,5	80	20					
1	1						
2							
4							
8							
16							

In der Verdünnungsstufe 10^3 Keime/ml lag die MHK für Mezlocillin bei 2 µg/ml und für Metronidazol bei 0,031 µg/ml. Bei kombinierter Einwirkung beider Substanzen war ein Rückgang beider MHK-Werte um zwei Stufen (für erkennbares Wachstum) zu erkennen (Abb. 75).

Abb.75:

Testart: Gußplattentest

Stamm : Clostridium difficile 13720

abgelesen nach 72 Stunden

Verdünnungsstufe 10^3 Keime/ml

Mezlocillin [µg/ml] \ Metronidazol [µg/ml]	0	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25
0	400	400	200				
0,5	200	100					
1	1						
2							
4							
8							
16							

IV Diskussion

A) Labortechnische Ergebnisse und Auswertungen

a) Zusammenwirkverhalten von Mezlocillin und Metronidazol

1. Definition und Allgemeines

Das Kernproblem dieser Arbeit war die Beantwortung der Frage, ob die Wirkung von Mezlocillin bzw. Metronidazol durch die gleichzeitige Anwesenheit des anderen Antibioticums verstärkt, abgeschwächt oder gar nicht beeinflußt wird. Ausdruck findet die gegenseitige Beeinflussung in der Veränderung der MHK der einen Substanz, bei gleichzeitiger Anwesenheit des anderen Antibioticums. Liegt ein Synergismus vor, so ist die Hemmwirkung beider Substanzen stärker als die Summe ihrer Einzelwirkungen. Dies findet Ausdruck darin, daß die MHK des einen Antibioticums bei Anwesenheit des anderen zurückgeht. Ist die MHK auf ein Viertel der Ausgangsdosis reduziert, so spricht man von Wirkungssynergismus, ist sie auf die Hälfte reduziert, so liegt eine additive Wirkung vor, und ist die MHK bei gleichzeitiger Einwirkung beider Substanzen nicht verändert, so liegt keine Beeinflussung vor (Abb. 76). Würde die MHK bei Einwirkung beider Substanzen größer, das heißt, würde zur Keimhemmung mehr Antibioticum gebraucht, so läge ein Antagonismus vor.

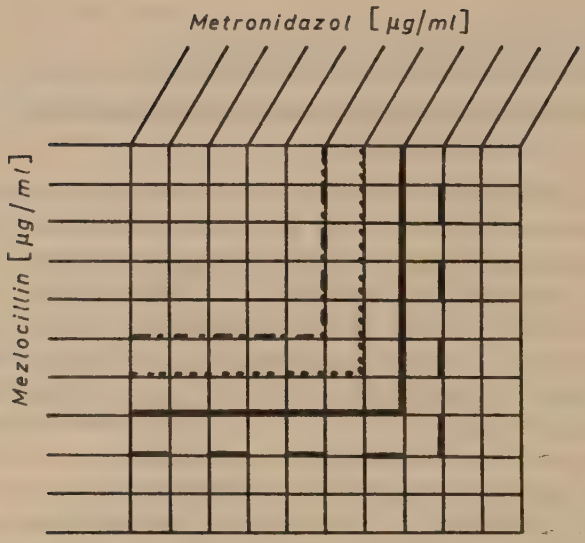


Abb.76: Skizze zum Zusammenwirkungsverhalten:

a. ——— neutral (MHK unverändert)
b. ····· additiv
c. —·—· synergistisch
d. —— —— antagonistisch

} jeweils in Abweichung von der Neutrallinie (a.)

2. Einzelne Ergebnisse

Die Zusammenwirkcharakteristik der beiden Antibiotica ist, wie die hier wiedergegebenen Testergebnisse zeigen, abhängig von Spezies, Stamm und Untersuchungsmethoden, dagegen blieb die Keimdichte ohne Einfluß.

	Gramverhalten	Boullionadil.t.	Agaradil. test MK	Agaradil. test GK	Gußplatten-test I	II	III	IV	V	VI
S.necrophorus 38	-			A						
S.necrophorus 35	-			A						
S.varius 4181	-		S							
S.varius 2084	-	(A)	S							
S.freundii B982	-	A		S						
S.freundii Lille+	-									
F.fusif. 021546	-		S	A						
F.fusif. 3772	-		S	A	(S)					
Pst. anaer. 932	+	S		S						
Pst. anaer. 4526	+	S	S	A						
P. asacch. 1838	+			A						
P.asacch. 9771	+	A	S	S						
P.prev. 4266	+	S	S	A						
P.prev. 12732	+		S	A	(S)	S	S	S	S	
P.var. 4008/2	+	A	S	S						
P.var. 0168	+	S	S	A						
Cl.perfr. 018868	+	S		S	S	S				
Cl.perfr. 022333	+	S		S						
Cl.sporog. 02011	+	A		S						
Cl.diff. 13720	+			A	A	A	A			

+252

Abb.77: Zusammenwirkungsverhalten von Mezlocillin und Metronidazol.
A= additives Verhalten,S= synergistisches Verhalten; (GK= große Kolonien,MK= kleine Kolonien ; Ziffern = Verdünnungsstufe (Gußpl.test))

Sphaerophorus necrophorus 38/77 zeigte im Bouillondilutionstest keine Beeinflussung der beiden Antibiotica, im Agardilutionstest eine additive Wirkung.

Sphaerophorus necrophorus 35/77 zeigte das gleiche Ergebnis.

Die Kultur von Sphaerophorus-varius 4181/75 zeigte im Bouillondilutionstest keine gegenseitige Beeinflussung der Kombination und im Agardilutionstest bei Mitberücksichtigung der Mikrokolonien einen Synergismus, bei Nichtberücksichtigung derselben Indifferenz.

Der Stamm von Sphaerophorus varius 2084/75 zeigte im Bouillondilutionstest eine indifferente bis additive Wirkung, im Agardilutionstest, bei Mitberücksichtigung der Mikrokolonien, einen Synergismus, ohne Mikrokolonien Indifferenz.

Sphaerophorus freundii B 982 zeigte im Bouillondilutionstest eine additive Wirkung und im Agardilutionstest einen Synergismus.

Bei Sphaerophorus freundii Lille 252 wurde in beiden Testverfahren keine gegenseitige Beeinflussung der Kombination festgestellt.

Fusobacterium fusiforme 021546/1 wies im Bouillondilutionstest keine gegenseitige Beeinflussung, im Agardilutionstest für große Kolonien eine additive bis synergistische Wirkung und, bei Mitberücksichtigung der Mikrokolonien, einen Synergismus auf.

Fusobacterium fusiforme 3772 ließ im Bouillondilutionstest keine gegenseitige Beeinflussung der Substanzen erkennen. Im Agardilutionstest wurde für große Kolonien eine additive und einschließlich der Mikrokolonien eine synergistische Wirkung abgelesen. Im hier durchgeführten Gußplattentest zeigte sich in der ersten Verdünnungsstufe ein wahrscheinlicher Synergismus (die Dosierung im Ansatz für Metronidazol war etwas zu hoch, so daß nicht alle Plattenreihen bewachsen waren und ein optimales Ablesen nicht möglich war); in den höheren Verdünnungsstufen war das Verhalten nicht beurteilbar, da mit sinkender Keimzahl die Empfindlichkeit für Metronidazol so groß wird, daß für eine Beurteilung zu wenige Plattenreihen bewachsen waren; bei ganz niedrigen Keimzahlen war nur noch die Mezlocillin-Reihe bewachsen.

Bei Peptostreptococcus anaerobius 932 wurde im Bouillondilutionstest und im Agardilutionstest ein deutlicher Synergismus festgestellt.

Peptostreptococcus anaerobius 4526 ließ im Bouillondilutionstest Synergismus, im Agardilutionstest für große Kolonien additive Wirkung und bei Mitberücksichtigung der Mikrokolonien Synergismus erkennen.

Die Kultur von Peptococcus asaccharolyticus 1838 zeigte im Bouillondilutionstest zuerst einen Synergismus, der aber mit der Zeit in späteren Ablesungen nicht mehr zu beobachten war. Im Agardilutionstest wurde additive Wirkung abgelesen.

Peptococcus asaccharolyticus 9771 war im Bouillondilutionstest durch additive Wirkung und im Agardilutionstest durch synergistische Wirkung der Kombination charakterisiert.

Peptococcus prevotii 4266 wies im Bouillondilutionstest synergistische Wirkung, die mit der Zeit stärker wurde, auf. Im Agardilutionstest zeigte sich für große Kolonien eine additive, unter Berücksichtigung der Mikrokolonien eine synergistische Wirkung der Kombination.

Bei Peptococcus prevotii 12732 ließ sich im Bouillondilutionstest keine gegenseitige Beeinflussung der Antibiotica, im Agardilutionstest für große Kolonien eine additive Wirkung, bei Berücksichtigung der Mikrokolonien eine synergistische Wirkung beobachten. Der hier durchgeführte Gußplattentest zeigte in der höchsten Keimdichte eine deutliche Reduktion des Wachstums bei Einwirkung beider Substanzen. Die MHK lag jedoch für beide Substanzen außerhalb des Testansatzes. In den folgenden Keimverdünnungsstufen mit niedrigerer Keimdichte war ein deutlicher Synergismus zu erkennen. Die letzte Verdünnungsstufe war leider in einer Reihe kontaminiert und somit schlecht beurteilbar.

Peptococcus variabilis 4008/2 zeigte im Bouillondilutionstest eine additive Wirkung und im Agardilutionstest eine synergistische Wirkung.

Bei der Kultur 1168 von Peptococcus variabilis wurde im Bouillondilutionstest eine zuerst additive, bei weiteren Ablesungen synergistische Wirkung gefunden, im Agardilutionstest zeigte sich für große Kolonien eine additive und bei Berücksichtigung der Mikrokolonien eine synergistische Wirkung der Kombination.

Bei Clostidium perfringens 018868 wurde sowohl im Bouillondilutionstest als auch im Agardilutionstest übereinstimmend eine synergistische Wirkung der Kombination festgestellt.

Auch Clostridium perfringens 022333 zeigte in beiden Testverfahren einen eindeutigen Synergismus. Der hier durchgeführte Gußplattentest ergab in den ersten beiden Keimverdünnungsstufen mit den höheren Keimzahlen Synergismus, die folgenden Verdünnungsstufen wiesen für eine eindeutige Beurteilung zu niedrige Keimzahlen auf.

Clostridium sporogenes 02011 war im Bouillondilutionstest durch synergistische, im Agardilutionstest durch additive Wirkung charakterisiert.

Bei Clostridium difficile 13720 war im Bouillondilutionstest keine Wachstumsbeeinflussung, im Agardilutionstest eine additive Wirkung zu beobachten. Der hier durchgeführte Gußplattentest zeigte in den ersten drei Verdünnungsstufen mit höheren Keimzahlen eine additive Wirkung. Die Verdünnungsstufen mit niedrigeren Keimzahlen konnten wegen zu geringen Wachstums nicht beurteilt werden.

3. Gramverhalten

Im Vergleich des Wachstumsverhaltens der zwanzig Stämme bei Einwirken beider Substanzen ließen sich keine absolut eindeutigen Stammgruppierungen mit gleichem Verhalten finden; es fiel aber auf, daß die gram-negativen Stämme, also die Sphaerophorus-Stämme und die beiden Fusobakterien weniger oft eine additive oder gar synergistische Wirkweise von Mezlocillin und Metronidazol zeigten. Dies war im Bouillondilutionstest deutlicher als im Agardilutionstest. Bei den Fusobakterien zeigte sich deutlich unterschied-

lich in den Methoden im Bouillondilutionstest keine gegenseitige Wirkungsbeeinflussung, dagegen aber im Agardilutionstest für große Kolonien eine additive Wirkung und bei Berücksichtigung der Mikrokolonien sogar eine synergistische Wirkung. Innerhalb der Sphaerophorus-Gruppe zeigte sich nur bei S. freundii B 982 im Agardilutionstest für große Kolonien und bei den beiden Kulturen von S. varius im Agardilutionstest bei den Mikrokolonien ein Synergismus.

Bei den getesteten grampositiven Keimen, also bei den Peptococcacae und den Clostridien war wesentlich häufiger ein Wirkungssynergismus zu finden. Im Agardilutionstest waren alle grampositiven Keime wenigstens additiv oder sogar synergistisch durch die beiden Antibiotica beeinflußt. Beim Auftreten von Mikrokolonien war immer ein Synergismus zu erkennen. Dies war bei sechs Stämmen der Fall. Allerdings zeigten auch gramnegative Keime in vier Fällen beim Auftreten von Mikrokolonien Synergismus.

Auffällig war in diesem Zusammenhang das Verhalten von Clostridium difficile 13720, das als grampositiver Keim im Agardilutions- bzw. im Gußplattentest lediglich ein additives Wachstumsverhalten zeigte.

Peptococcus prevotii 12732 zeigte, obwohl grampositiv, im Bouillondilutionstest keine Abweichungen von den Einzelkomponenten-MHK-Werten, dafür aber im Gußplattentest einen deutlichen Synergismus.

Peptococcus asaccharolyticus 1838 zeigte ebenso im Bouillondilutionstest keine Besonderheiten gegenüber den Komponenten, und im Agardilutionstest war nur eine additive Wirkung der Kombination zu erkennen.

Bei den gramnegativen Keimen fiel nur Sphaerophorus freundii B 982 sowohl im Bouillondilutionstest als auch im Agardilutionstest durch additive Beeinflussung bzw. Synergismus heraus. Ein Synergismus zeigte sich bei den gramnegativen Keimen sonst nur noch beim Auftreten von Mikrokolonien, dies war bei den beiden

Fusobakterien und bei den beiden Sphaerophorus-varius Kulturen der Fall. Mikrokolonien beim Agardilutionstest als Ausdruck für schwaches Wachstum schienen auf das Zusammentreffen beider Antibiotica besonders anzusprechen.

Generell bestand bei den gramnegativen Keimen eine deutliche Tendenz zur Nichtbeeinflussung der Antibioticumwirkungen untereinander, was im Bouillondilutionstest deutlicher als im Agardilutionstest zu erkennen war. Der Gußplattentest wurde hier nur bei Fusobacterium fusiforme 3772 durchgeführt und zeigte einen angedeuteten Synergismus. Bei den grampositiven Keimen war eine deutliche Tendenz zum Synergismus zu erkennen, im Agardilutionstest klarer als im Bouillondilutionstest. Der Gußplattentest wich in seinen Ergebnissen bei den grampositiven Keimen nicht vom Agardilutionstest ab.

Demnach ist der Zusammenhang grampositiv = synergistisches Zusammenwirkverhalten der beiden Antibiotica und gramnegativ = keine gegenseitige Wirkungsbeeinflussung nur eine Tendenz und keine Regel.

Auch das Verhalten der einzelnen Species untereinander ist verschieden. Es verhielten sich die Kokken nicht alle gleich synergistisch, die Clostridien nicht alle gleich synergistisch, die Sphaerophorus-Stämme und die Fusobakterien-Stämme nicht alle gleich unsynergistisch. Sogar die einzelnen Stämme der Species können sich gänzlich anders verhalten, wie an dem Beispiel der beiden Sphaerophorus-freundii-Stämme oder der beiden Peptococcus-asaccharolyticus- und auch der beiden Peptococcus-variabilis-Kulturen deutlich wird.

4. Methodenabhängigkeit

Beim Vergleich der drei Methoden stellt sich heraus, daß die beiden im Agar durchgeführten Tests gleiche, identische oder sehr ähnliche Ergebnisse erbracht haben. Der Bouillondilutionstest

wich von diesen beiden oft erheblich ab, z.B. lediglich graduell bei Clostridium sporogenes 02011 (additiv-synergistisch) oder sogar deutlich (kein Synergismus - Synergismus) bei den Fusobakterien oder bei Peptococcus prevotii 12732.

Die Tendenz zum Synergismus war im Agarmedium, unter Mitberücksichtigung der Mikrokolonien,immer stärker.

5. Zeitabhängigkeit

Das Zusammenwirkverhalten beider Antibiotica im Bouillondilutionstest änderte sich in einigen Fällen bei mehreren Ablesungen mit der Bebrütungszeit. Zumeist wurde das bei der ersten Ablesung erkannte Zusammenwirkverhalten deutlicher (z.B. Sphaerophorus necrophorus 38 oder auch Sphaerophorus necrophorus 35) oder es wurde ein additives (S. freundii B 982), oder ein synergistisches (z.B. P. prevotii 4266) Verhalten erkennbar, oder es wurde mit zunehmender Bebrütungszeit ersichtlich, daß keine Wirkungsbeeinflussung stattfand (F. fusiforme 3772 oder P. asaccharolyticus 1838).

6. Keimdichteabhängigkeit

Im Gußplattentest ließ sich bei Fusobacterium fusiforme 3772 im Vergleich der fünf verschiedenen Keimkonzentrationen erkennen, daß die MHK in Einzeltestung bei Mezlocillin mit sinkender Keimzahl leicht und bei Metronidazol sehr stark zurückgingen.

Bei Peptococcus prevotii 12732 zeigte sich im Gußplattentest im Vergleich der sechs Verdünnungsstufen für beide MHK in Einzeltestung eine Reduktion bei zunehmender Keimdichte; bei Einwirken beider Substanzen war die Reduktion beider MHK in allen Verdünnungsstufen deutlich erkennbar.

Der Gußplattentest bei Clostridium perfringens 022333 zeigte, daß sich die Mezlocillin-MHK mit sinkender Keimzahl nicht veränderte, die MHK für Metronidazol aber mit niedrigerer Keimzahl stieg. In allen Keimverdünnungsstufen war, und zwar bei höherer Keimzahl deutlicher, ein Rückgang beider MHK-Werte bei kombinier-

ter Einwirkung der Substanzen zu erkennen.

Bei Clostridium difficile 13720 zeigte sich im Gußplattentest, daß die MHK sowohl für Mezlocillin als auch für Metronidazol bei niedrigeren Keimzahlen zurückgingen. In allen Verdünnungsstufen war ein deutlicher Rückgang der MHK bei kombinierter Einwirkung der Antibiotica zu erkennen.

In allen Verdünnungsstufen änderte sich der grundsätzliche Rückgang der MHK bei kombinierter Einwirkung der Substanzen nicht.

b) Methodenvergleich

1. MHK der Monosubstanzen - Wirkstärkevergleich der Antibiotica

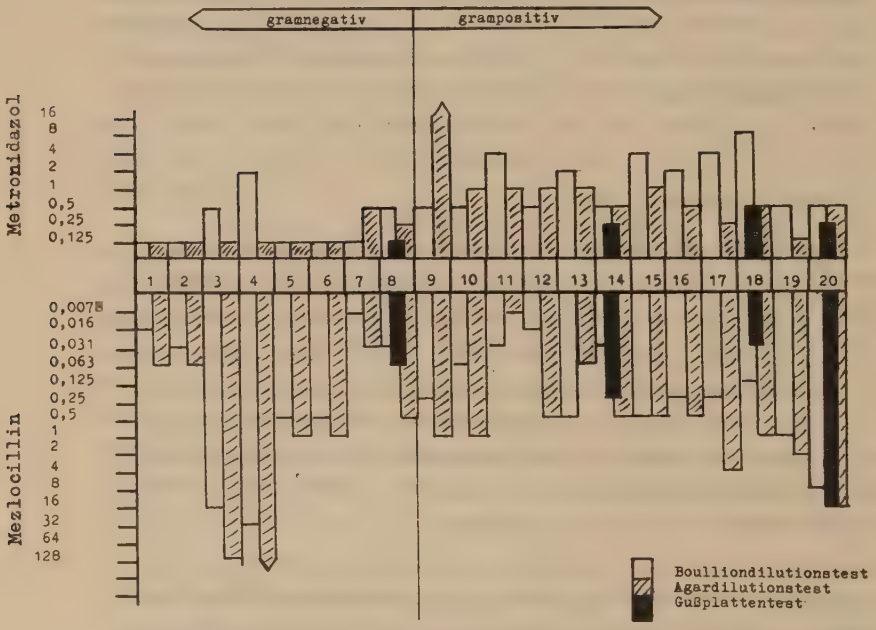


Abb.78: MHK der Monosubstanzen
(Stammnummern siehe Tabelle 11)

Bei Metronidazol fällt auf, daß die MHK beim Bouillondilutionstest in der Regel höher lag als im Agardilutionstest, daß in vielen Fällen die MHK bei den beiden Testverfahren gleich war (bei sechs Stämmen) und daß im Gußplattentest bei drei der vier untersuchten Stämme die MHK kleiner als bei den anderen beiden Untersuchungsverfahren war. Bei Clostridium perfringens 022333 war die MHK der beiden Agar-verwendenden Methoden gleich. Bei den grampositiven Stämmen war die MHK in der Regel höher als bei den gramnegativen. Die MHK-Werte lagen zwischen 0,125 µg/ml und 16 µg/ml. In einem Fall betrug die MHK über 16 µg/ml (Peptostreptococcus anaerobius 932). Die arithmetischen MHK-Mittelwerte lauteten für den

Bouillondilutionstest	1,031 µg/ml
Agardilutionstest	0,454 µg/ml
Gußplattentest	0,281 µg/ml.

Bei der Berechnung des Mittelwertes beim Agardilutionstest wurde der über 16 µg/ml liegende und aus dem Testansatz herausragende MHK-Wert des Peptostreptococcus anaerobius 932 als Ausreißer nicht mitberücksichtigt.

Bei Mezlocillin lagen die MHK-Werte zwischen 0,0078 µg/ml und 128 µg/ml und streuten somit wesentlich stärker als bei Metronidazol.
Die MHK-Mittelwerte (arithmetisch) der drei verschiedenen Testverfahren lauteten für den

Bouillondilutionstest	3,000 µg/ml
Agardilutionstest	8,275 µg/ml
Gußplattentest	4,086 µg/ml.

Bei der Berechnung des Mittelwertes für den Agardilutionstest wurde der Wert des Sphaerophorus varius 2084 nicht berücksichtigt, da er jenseits des Testansatzes lag. Es wird deutlich, daß die MHK beim Agardilutionstest in der Regel größer war als im Bouillondilutionstest, gleiche MHK-Werte traten nur in einem Fall auf. Zum Vergleich ergaben sich bei Metronidazol in sechs Fällen gleiche MHK-Werte, und die MHK war beim Bouillondilutionstest in

der Regel größer. Die MHK beim Gußplattentest lag bei Mezlocillin zwischen den MHK-Werten der beiden anderen Verfahren; bei Metronidazol war die MHK des Gußplattentests bis auf einen Fall kleiner als die MHK der beiden anderen Verfahren, und in diesem Fall entsprach sie der MHK des Agardilutionstests.
Die MHK-Werte der gramnegativen Stämme waren inhomogener als die der grampositiven, aber nicht deutlich niedriger oder höher. Bei Metronidazol waren die MHK-Werte in der Regel bei den grampositiven Stämmen höher.
Die Abweichungen der MHK des Agardilutionstestes vom Bouillondilutionstest waren bei Mezlocillin deutlich stärker als bei Metronidazol. Bei Mezlocillin betrug das arithmetische Mittel der MHK-Abweichung der beiden Methoden 6,844 µg/ml oder 3,142 Antibioticumverdünnungsstufen, bei Metronidazol 1,187 µg/ml bzw. 1,473 Antibioticumverdünnungsstufen.
Wie schon oben erwähnt, wirkte Mezlocillin in der Regel im Bouillondilutionstest, Metronidazol im Agardilutionstest stärker.

2. MHK der Kombination - Wirkstärkevergleich der Methoden

Für den Vergleich der Wirkstärke der Antibioticumkonzentration Mezlocillin - Metronidazol in den beiden Testmethoden Bouillondilutionstest und Agardilutionstest ist es aufschlußreich, die oben einzeln wiedergegebenen schachbrettartigen Wachstumsschemata der einzelnen Stämme in den beiden Testmethoden übereinanderzuprojizieren. Bei diesem Verfahren läßt sich deutlich erkennen, welches Antibioticum bei welcher Testmethode wirksamer ist, inwieweit starke oder keine MHK-Unterschiede in den beiden Methoden auftreten und ganz allgemein wie weit die Testergebnisse der beiden Verfahren voneinander abweichen (Abb. 79 - 98).

Bei Sphaerophorus necrophorus 38 war die Metronidazol MHK in beiden Verfahren gleich, im Bouillondilutionstest zeigte sich der Keim mezlocillinempfindlicher. Die Ergebnisse der beiden Methoden wichen nicht stark voneinander ab. Das Kombinationsverhalten der beiden Antibiotica war in beiden Verfahren nicht synergistisch (Abb. 79).

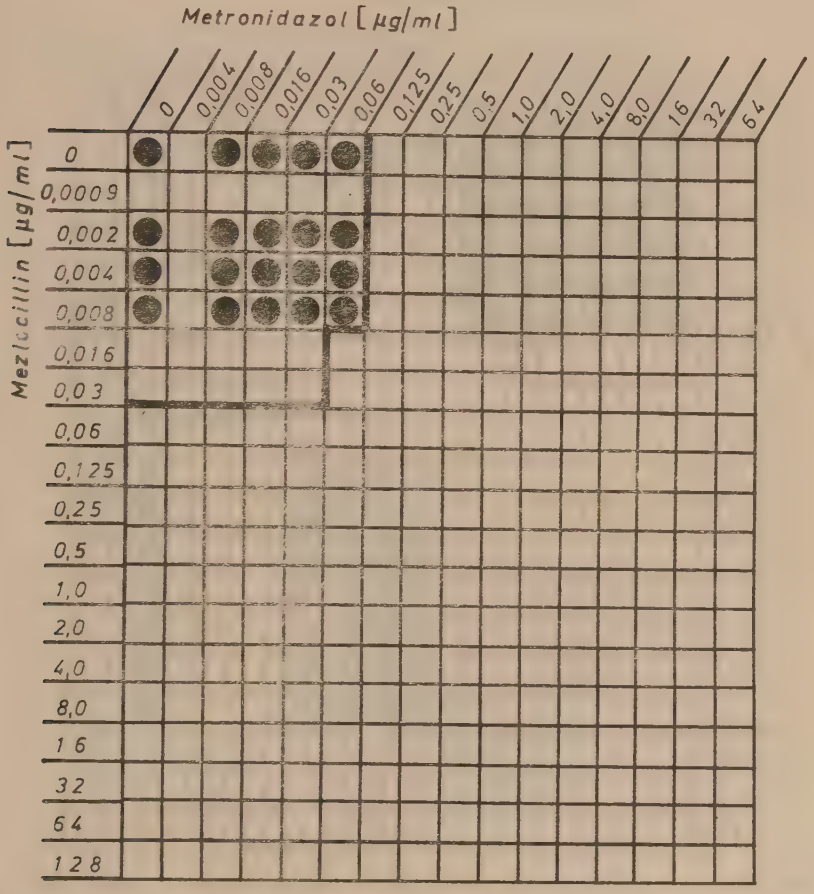


Abb.79 ● = Wachstum im Bouillondilutionstest

▬ = Wachstumsgrenze im Agardilutionstest

Sphaerophorus necrophorus 35 zeigte die gleichen Ergebnisse wie S. necrophorus 38, der Unterschied bei Mezlocillin war etwas geringer (Abb. 80).

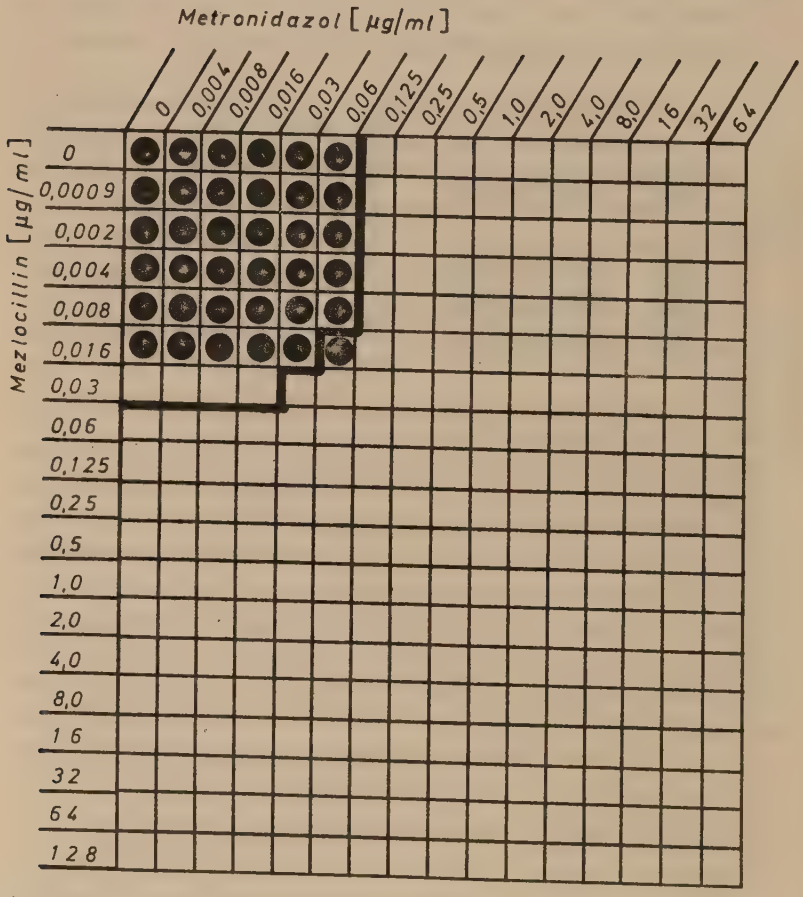


Abb.80

Sphaerophorus varius 4181 zeigte in den beiden Testmethoden deutlich andere Ergebnisse. Im Bouillondilutionstest war der Stamm weniger metronidazolempfindlich und stärker mezlocillinempfindlich, zudem wirkte hier die Kombination nicht synergistisch wie im Agardilutionstest (Abb. 81).

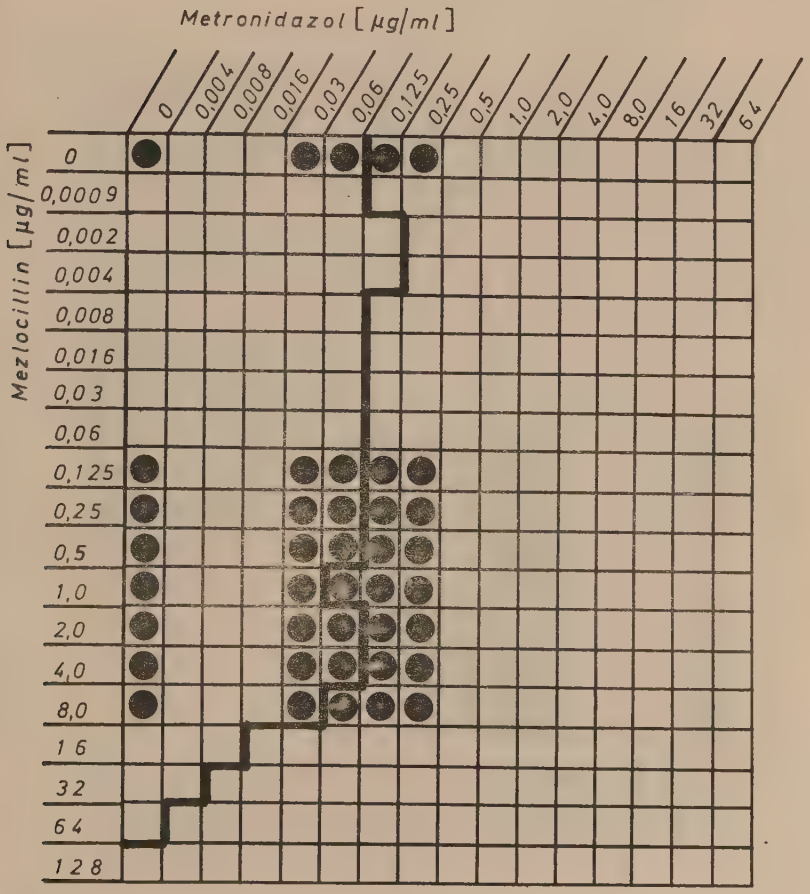


Abb.81

Sphaerophorus varius 2084 zeigte hier im wesentlichen das gleiche Verhalten wie S. varius 4181 auf, nur wurde diese Kultur im Bouillondilutionstest durch die Kombination additiv beeinflußt (Abb. 82).

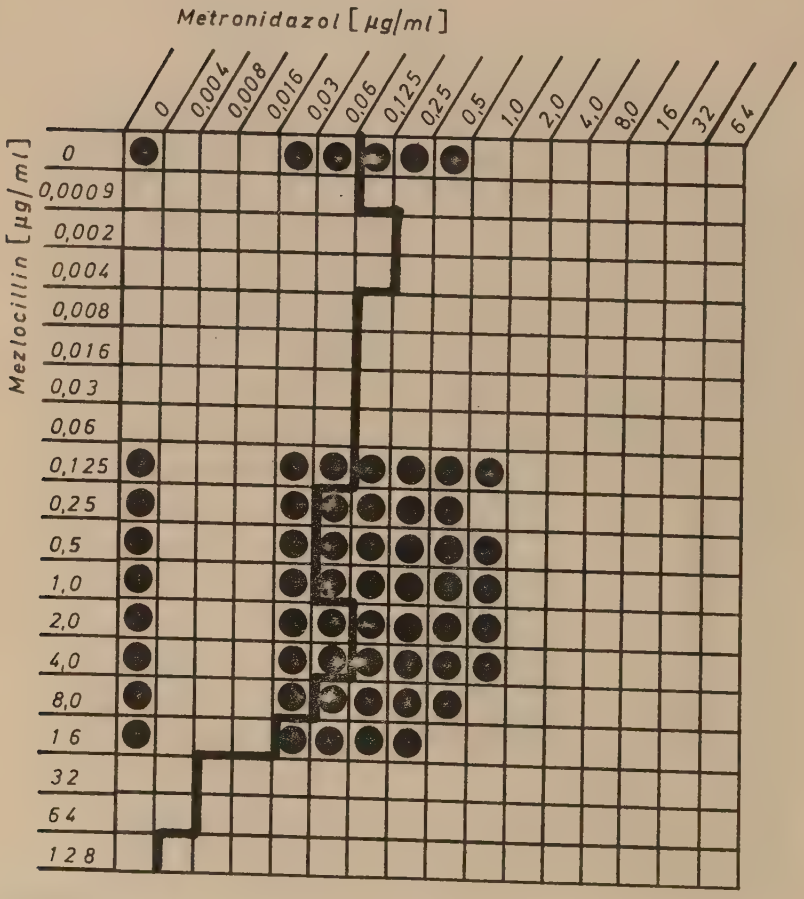


Abb.82

Bei Sphaerophorus freundii B 982 war die Wirkung von Metronidazol in den beiden Verfahren gleich, im Bouillondilutionstest zeigte sich eine geringgradig höhere Mezlocillinempfindlichkeit. Die Kombination erwies sich im Bouillondilutionstest als additiv und im Agardilutionstest als synergistisch (Abb. 83).

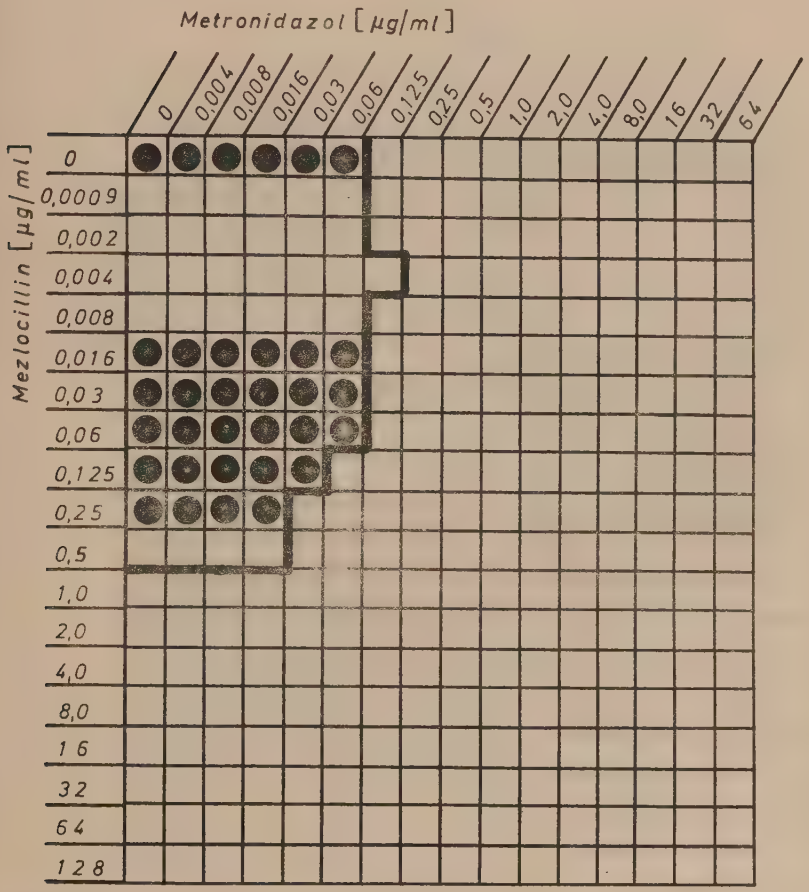


Abb.83

Sphaerophorus freundii Lille 252 verhielt sich im Prinzip wie S. freundii B 982, jedoch war seine Tendenz zum Synergismus in beiden Testverfahren, wie bereits im Abschnitt über den Synergismus beschrieben, geringer (Abb. 84).

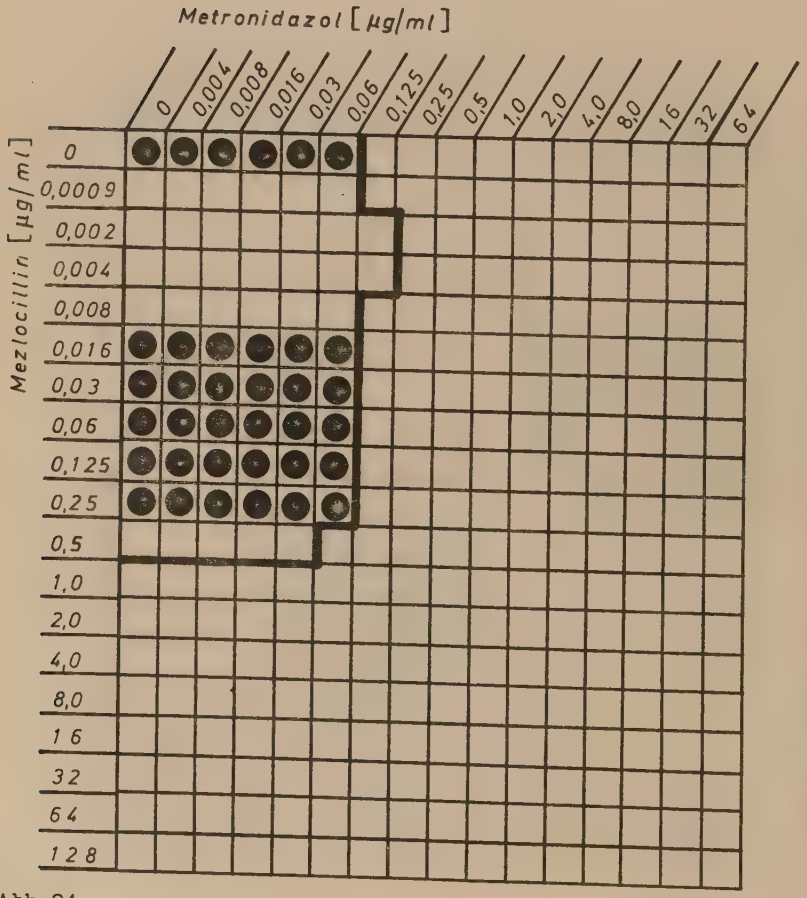


Abb.84

Fusobacterium fusiforme 021546/I war im Bouillondilutionstest sowohl mezlocillin- als auch metronidazolempfindlicher, die Tendenz zum Synergismus war im Agardilutionstest deutlicher. Im Bouillondilutionstest waren nur zwei Reihen bewachsen (Abb.85).

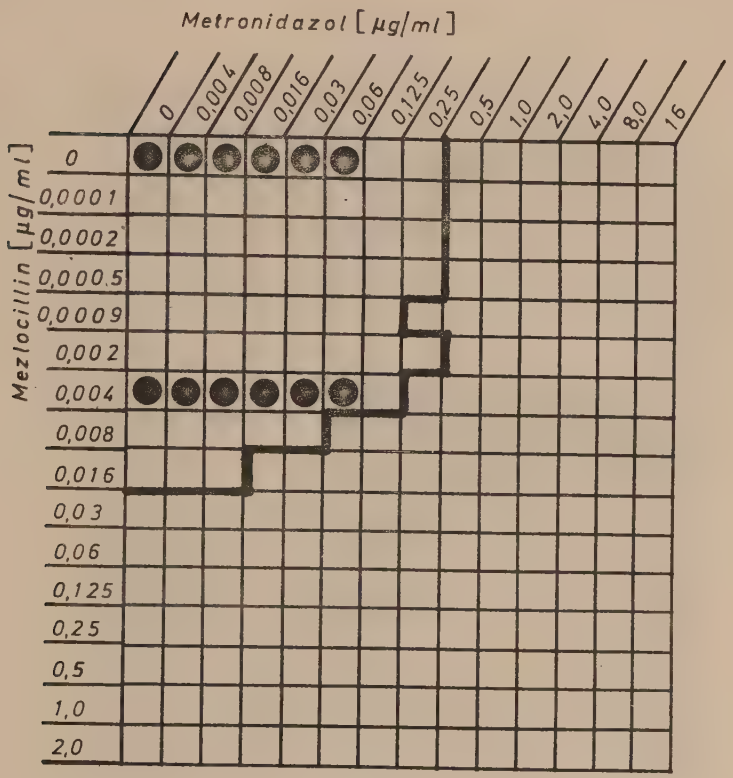


Abb.85

Fusobacterium fusiforme 3772 zeigte im wesentlichen die gleichen Ergebnisse wie die Kultur 021546/I derselben Species, nur war die Metronidazolempfindlichkeit hier deutlich geringer (Abb. 86).

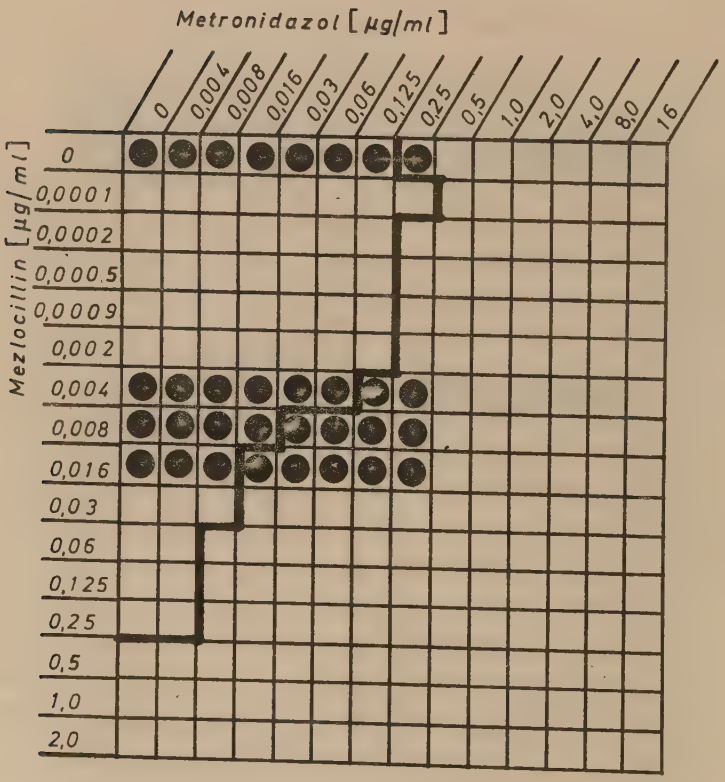


Abb.86

Bei Peptostreptococcus anaerobius 932 zeigte sich im Boullion-dilutionstest bei beiden Antibiotica eine höhere Empfindlichkeit als im Agardilutionstest. In beiden Verfahren war eine Tendenz zum Synergismus zu erkennen, sie war im Agardilutionstest deutlicher (Abb 87).

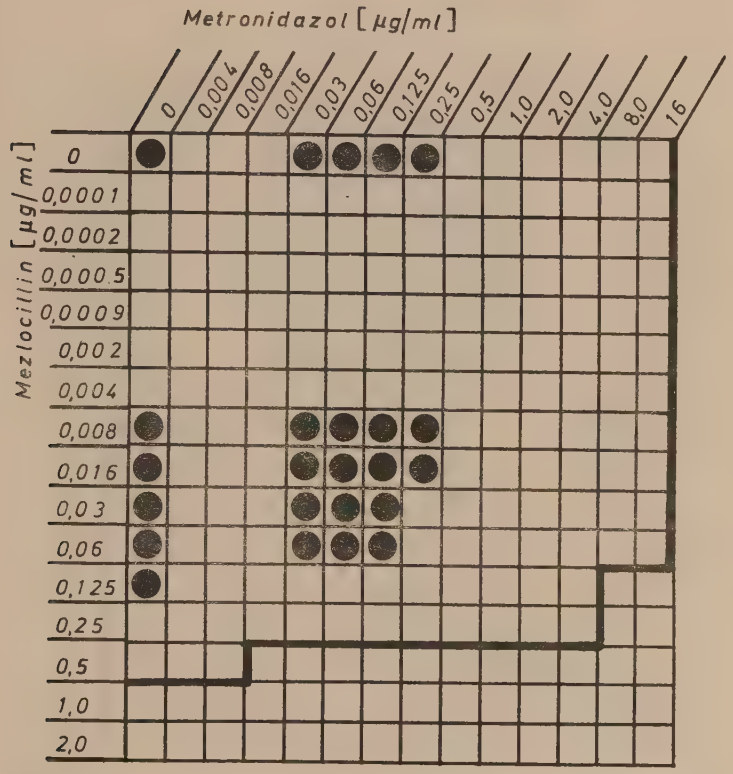


Abb.87

Peptostreptococcus anaerobius 4526 zeigte im wesentlichen die gleichen Ergebnisse wie die Kultur 932 derselben Species, jedoch zeigten beide Verfahren einen deutlichen Synergismus (Abb. 88).

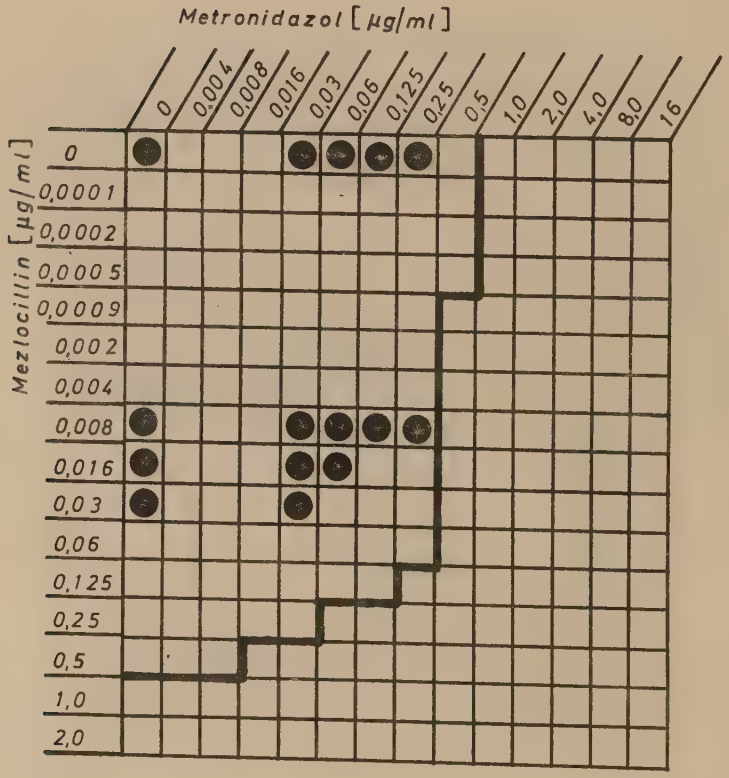


Abb.88

Bei Peptococcus asaccharolyticus 1838 war im Bouillondilutionstest eine höhere Mezlocillinempfindlichkeit und eine geringere Metronidazolempfindlichkeit zu erkennen. Eine Tendenz zum Synergismus trat in beiden Verfahren hervor, jedoch wirkte die Kombination im Bouillondilutionstest nur additiv (Abb. 89).

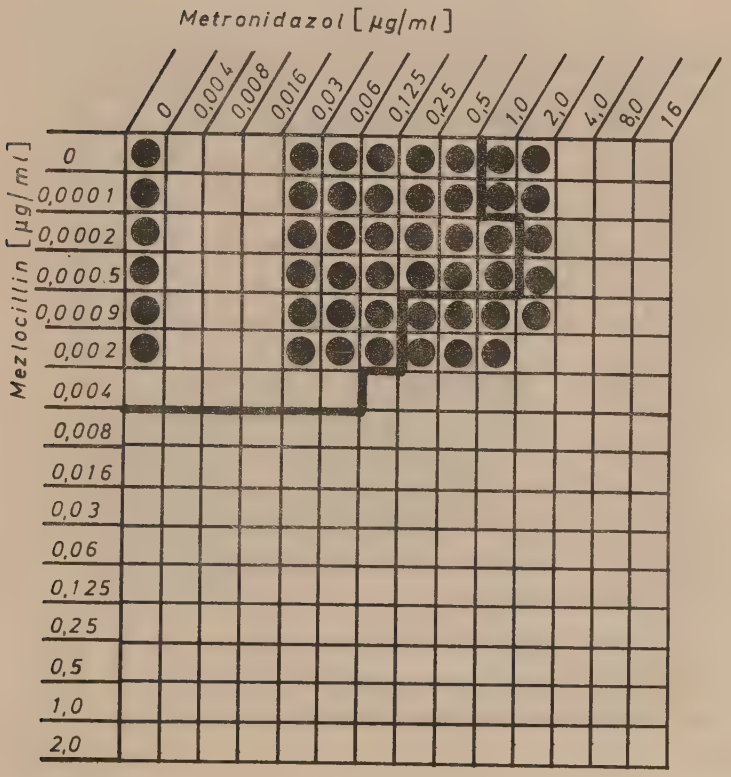


Abb.89

Das Verhalten von Peptococcus asaccharolyticus 9771 entsprach weitgehend dem des P. asaccharolyticus 1838, jedoch zeigte die Kultur 9771 im Bouillondilutionstest für beide Antibiotica eine höhere Empfindlichkeit; in diesem Test waren aber nur zwei Reihen bewachsen (Abb. 90)

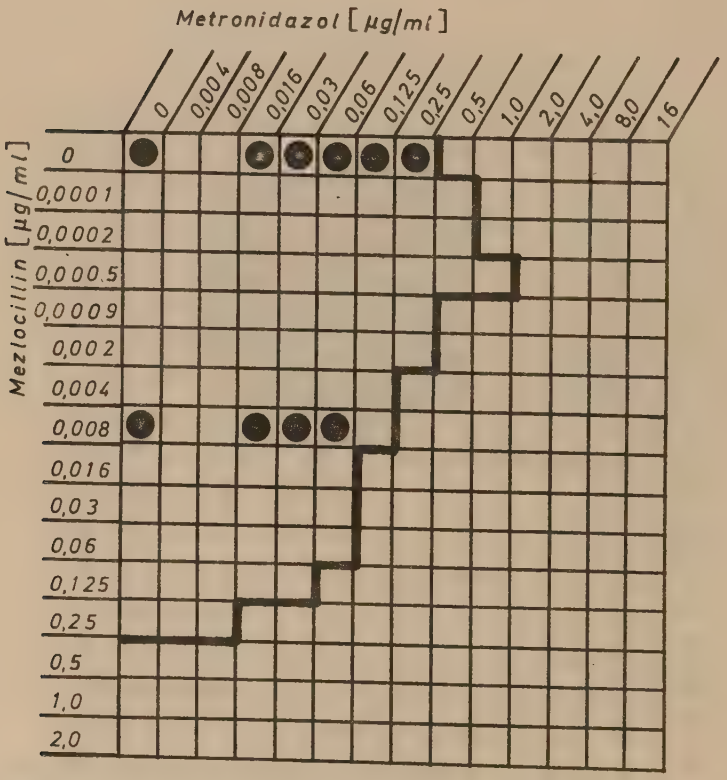


Abb.90

Peptococcus prevotii 4266 zeigte im Bouillondilutionstest die gleiche Metronidazolempfindlichkeit wie im Agardilutionstest, jedoch eine geringere für Mezlocillin. Beide Verfahren zeigten einen deutlichen Synergismus (Abb. 91).

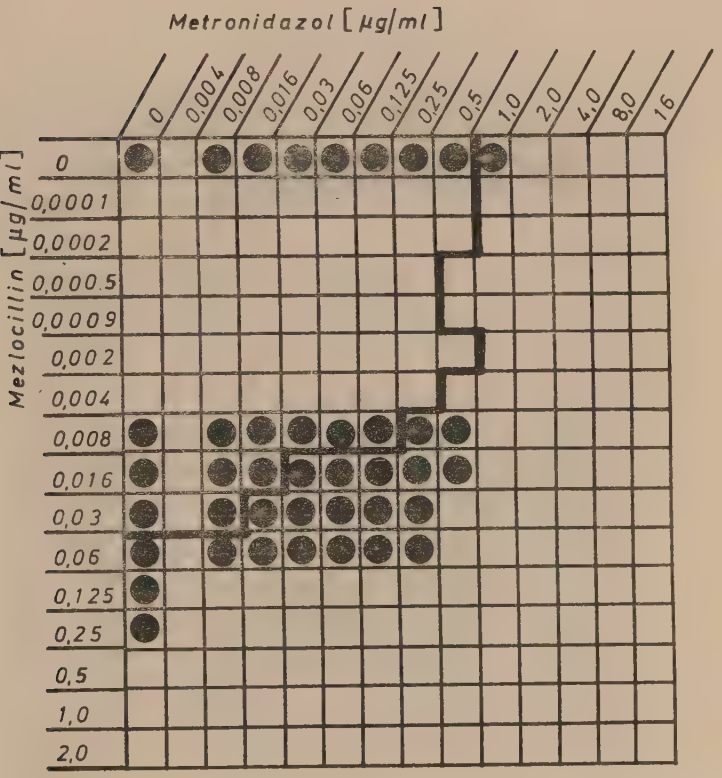


Abb.91

Bei Peptococcus prevotii 12732 war das Verhalten in den beiden Tests deutlich verschieden. Im Bouillondilutionstest erkannte man keinen Synergismus, im Agardilutionstest war er deutlich. Die Empfindlichkeit gegenüber Metronidazol war in beiden Testverfahren gleich, bei Mezlocillin erwies sich der Bouillondilutionstest als empfindlicher (Abb. 92).

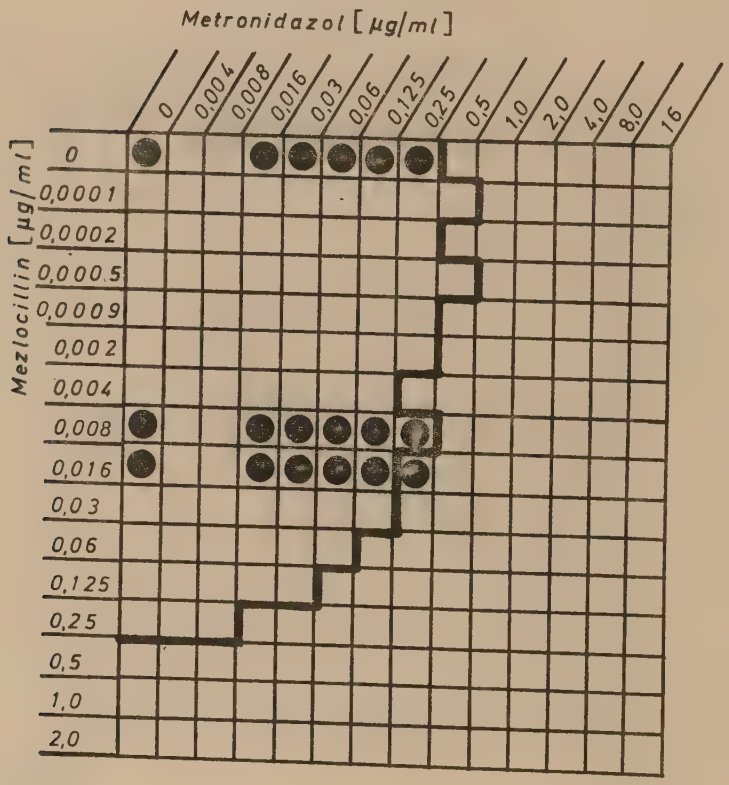


Abb.92

Peptococcus variabilis 4008/2 zeigte bei Mezlocillin die gleiche Empfindlichkeit in beiden Testverfahren, bei Metronidazol war der Agardilutionstest empfindlicher. Die Kombination wirkte im Bouillondilutionstest additiv, im Agardilutionstest synergistisch (Abb. 93).

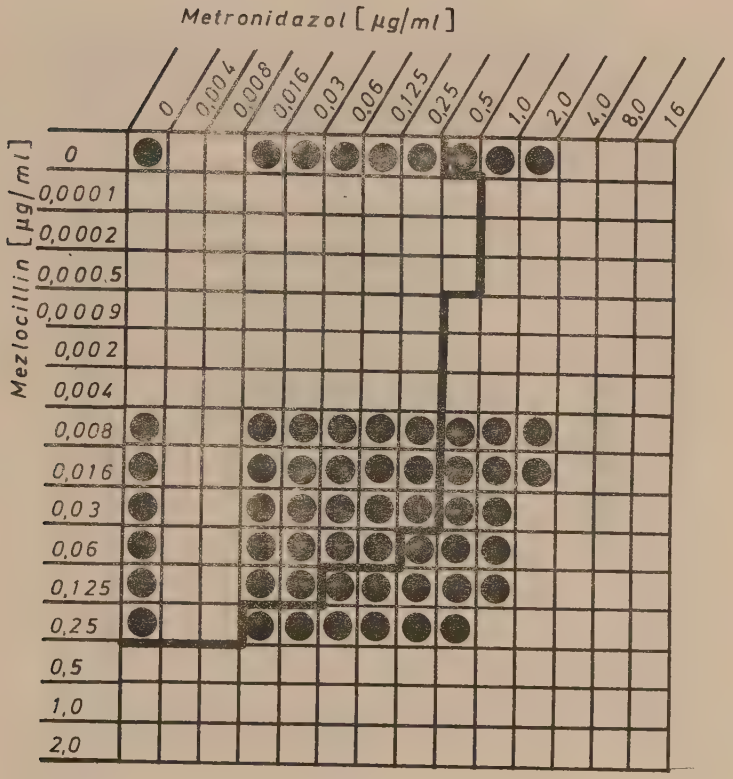


Abb.93

Das Verhalten von Peptococcus variabilis 0168 entsprach im wesentlichen dem der Kultur 4008/2 derselben Species, jedoch zeigten beide Tests einen deutlichen Synergismus. Der Bouillondilutionstest erwies sich bei der Mezlocillintestung als empfindlicher (Abb. 94).

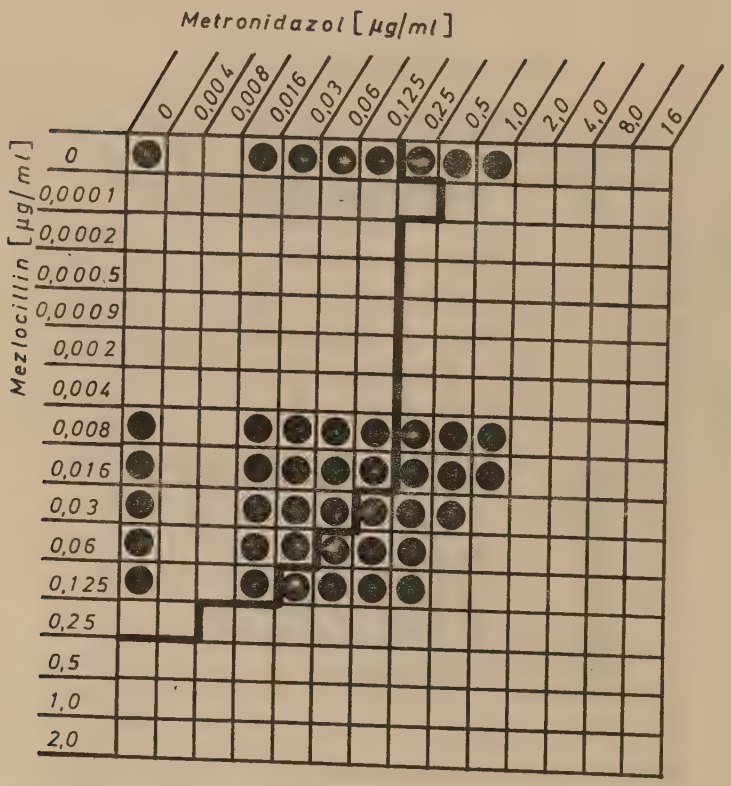


Abb.94

Bei Clostridium perfringens 018868 zeigte sich im Bouillondilutionstest eine geringere Metronidazolempfindlichkeit und eine höhere Mezlocillinempfindlichkeit als im Agardilutionstest. Beide Verfahren zeigten einen deutlichen Synergismus in der Kombinationstestung (Abb. 95).

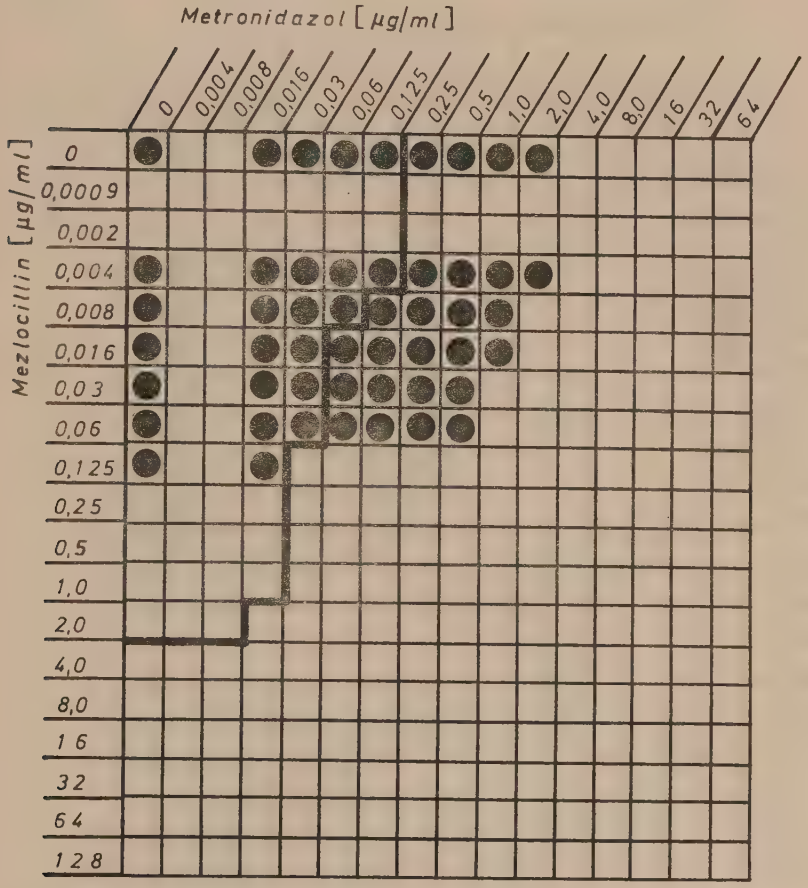


Abb.95

Clostridium perfringens 022333 zeigte im wesentlichen die gleichen Ergebnisse wie der Stamm 018868 derselben Species, jedoch ergab sich in der Kombinationstestung im Bouillondilutionstest nur ein additives Verhalten (Abb. 96).

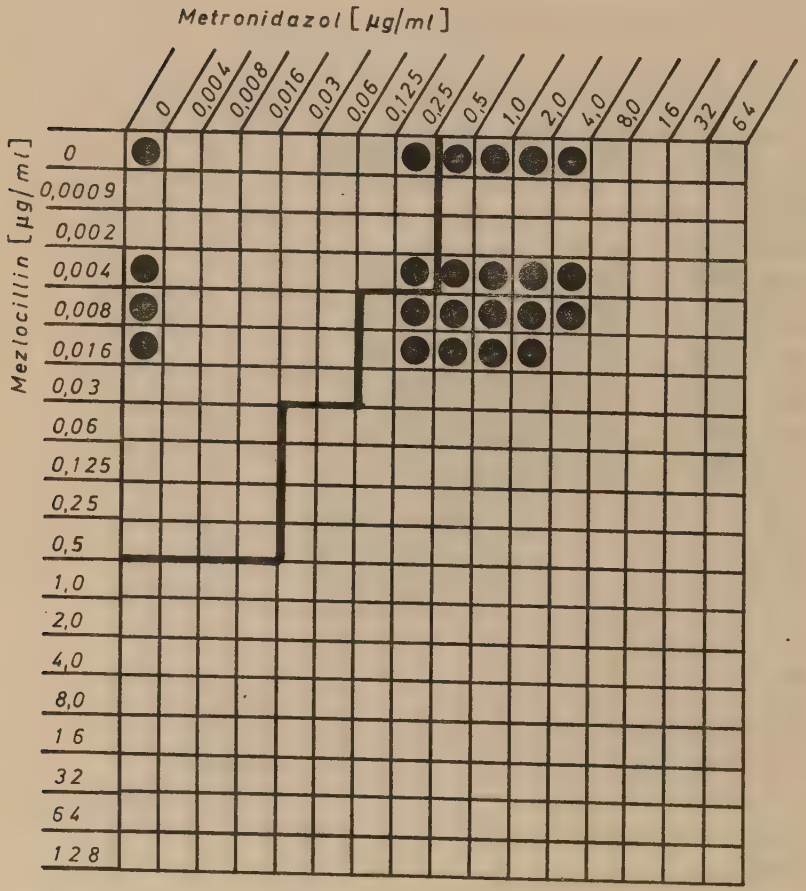


Abb.96

Clostridium sporogenes 02011 zeigte im Bouillondilutionstest wie die beiden Clostridium-perfringens-Kulturen eine geringere Metronidazolempfindlichkeit und eine höhere Mezlocillinempfindlichkeit als im Agardilutionstest. Die Kombination Metronidazol - Mezlocillin wirkte additiv, im Agardilutionstest synergistisch (Abb. 97).

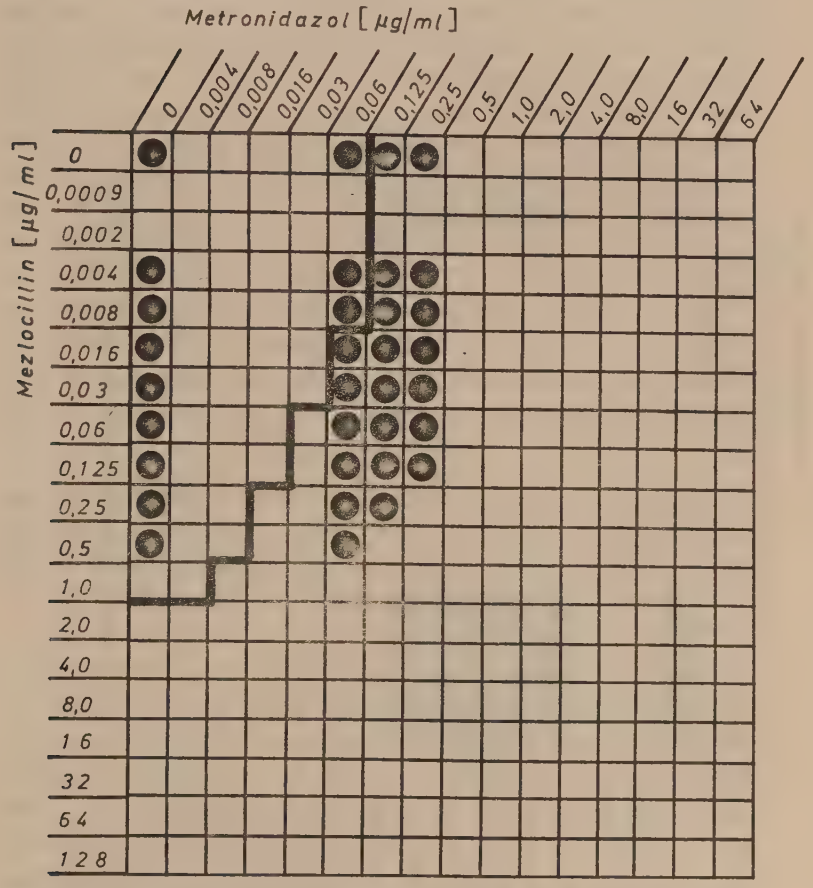


Abb.97

Clostridium difficile 13720 zeigte wiederum im Bouillondilutionstest eine geringere Metronidazolempfindlichkeit und eine höhere Mezlocillinempfindlichkeit als im Agardilutionstest. Auffällig war bei diesem Stamm, daß im Bouillondilutionstest nicht wie bei den übrigen Clostridien Synergismus der beiden Antibiotica auftrat, vielmehr war im Agardilutionstest nur eine additive Wirkung zu erkennen (Abb. 98).

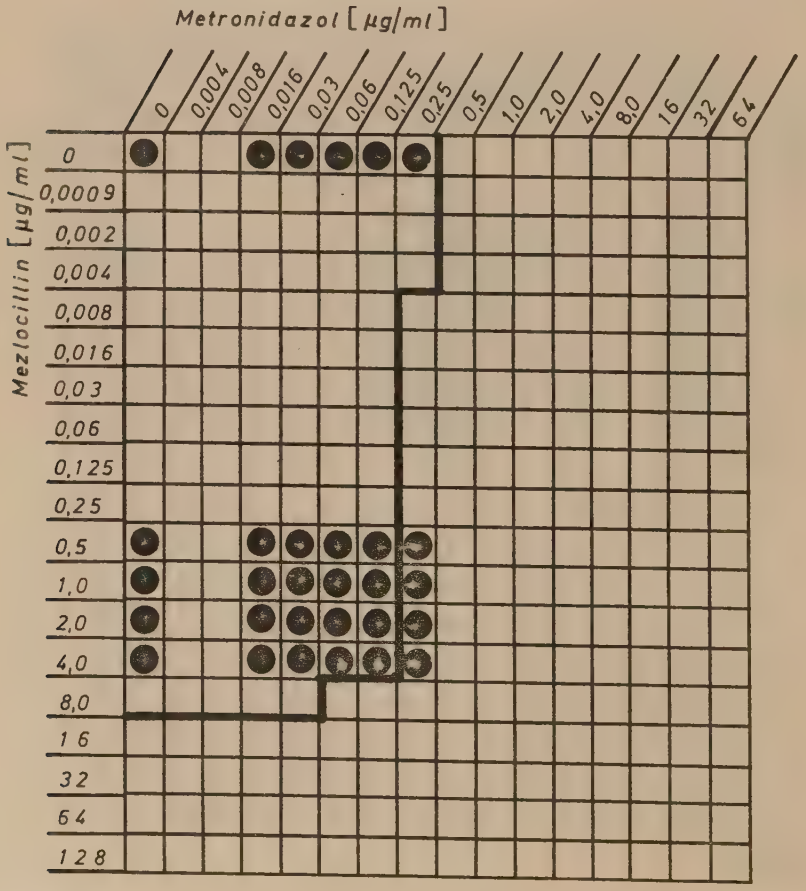


Abb.98

3. Zeitaufwand , Versagerquote

Das zeitlich aufwendigste Verfahren war der in fünf bis sechs Verdünnungsstufen angelegte Gußplattentest. Für nur einen Stamm nahmen die Vorbereitungen zwei bis drei Tage, der Test selbst einen vollen Tag und das Auswerten etwa fünf Stunden in Anspruch. Beim Bouillondilutionstest nahmen die Vorbereitungen auch etwa zwei bis drei Tage in Anspruch, der Test selber benötigte drei bis vier Stunden und für die zwei bis vier Ablesungen brauchte man je etwa eine halbe Stunde. Im Gegensatz zu den ersten beiden Verfahren, bei denen nur jeweils ein, gegebenenfalls zwei Stämme paralell bearbeitet wurden, konnten im Agardilutionstest zehn Stämme gleichzeitig bearbeitet werden. Für die Vorbereitungen wurden hier zwei bis drei Tage, für den Test selbst ein ganzer Tag und für die Auswertung etwa vier bis fünf Stunden gebraucht. Die Inkubationszeit im anaeroben Milieu betrug bei allen drei Testverfahren zwei bis drei Tage.
Am zeitaufwendigsten war der Gußplattentest mit etwa fünf Arbeitstagen pro Stamm, dann der Bouillondilutionstest mit etwa fünf Arbeitstagen für zwei parallele Stammansätze, und am wenigsten aufwendig war der Agardilutionstest mit etwa fünf Arbeitstagen für zehn parallele Stammansätze.

Die Versagerquote war beim Bouillondilutionstest am größten. Es wurden 34 Versuche zur Erlangung von 20 Ergebnissen durchgeführt. Sowohl beim Agardilutionstest als auch beim Gußplattentest brauchte dagegen kein Versuch wiederholt zu werden.

4. Klinische Relevanz der Methoden

Die Testbedingungen des Bouillondilutionstests und des Gußplattentests entsprechen möglicherweise nahe den Gegebenheiten im infizierten Organismus. Im Agardilutionstest wachsen die Keime auf einer getrockneten Agaroberfläche, dies ist mit den Verhältnissen im infizierten Gewebe kaum vergleichbar.

Der Agardilutionstest ist aus diesem Grunde wohl kritischer zu beurteilen als man aus seiner breiten und vielfach ausschließlichen Verwendung annehmen sollte.

Die Unterschiede zwischen Agardilutionstest und Gußplattentest waren geringer als zwischen Agardilutionstest und Bouillondilutionstest. Allerdings wurde der Gußplattentest nur mit vier von 20 Stämmen durchgeführt.

B)Relation zu anderen Arbeiten

Untersuchungen von Knebel über die Empfindlichkeit von 20 Bacteroides-Stämmen gegenüber der Kombination Mezlocillin-Metronidazol, die in der gleichen Methodik wie diese Arbeit durchgeführt wurden (45), ergaben in der Regel ein neutrales bis additives Verhalten. Ein Bacteroides-asaccharolyticus-Stamm zeigte im Bouillondilutionstest Synergismus. Im Agardilutionstest wurde bei je einem Stamm von Bacteroides thetaiotaomicron, Bacteroides distasonis und Bacteroides oralis Synergismus beobachtet. Antagonismus trat in keinem Fall auf; nur in vier Fällen wurde ein Synergismus beobachtet. Das entspricht in etwa der geringen Apparenz synergistischen Zusammenwirkverhaltens bei den in dieser Arbeit untersuchten gramnegativen Anaerobierstämmen.

Es gibt verschiedene Arbeiten über die Kombination von Mezlocillin oder Metronidazol mit anderen Antibiotica bei Aerobier- und Anaerobierinfektionen. Daschner untersuchte die Kombination von Mezlocillin und Sisomycin bei 20 aeroben Problemkeimen. In 50% der Fälle fand er einen additiven oder synergistischen Effekt. Neben der MHK war auch die MBK (mittlere bakterizide Konzentration) in fast allen Fällen gesenkt (17).

Ledger et al. (51) untersuchten die Wirkung von Metronidazol auf gynäkologische anaerobe Infektionen. Bei einer kleinen Gruppe von Patienten, bei denen Metronidazol alleine nicht wirksam war, konnte durch Zugabe eines aerobierwirksamen Antibioticums ein voller Therapieerfolg erreicht werden (51).

McNaught untersuchte die Wirksamkeit einer Metronidazol-Aminoglykosid Kombination (Kanamycin) auf aerob-anaerobe Darminfekte und beschrieb hier, wie auch für entsprechende Harnwegsinfekte, sehr gute Ergebnisse. Er empfahl diese Kombination bei aerob-anaeroben Mischinfektionen (57).

Entsprechend gute Ergebnisse mit dieser Kombination wurden auch von Gillespie und McNaught beschrieben (34).

Carneri et al. untersuchten die Kombination von Metronidazol

und Chloramphenicol bei Clostridien und fanden einen Synergismus bei Clostridium perfringens, C. sporogenes und C. bifermentans, eine additive Wirkung bei C. tetani und C. septicum (11).

Busch et al. untersuchten Kombinationen von Metronidazol mit verschiedenen anderen Antibiotica bei Bacteroides fragilis und fanden bei 12 von 17 Stämmen mit der Kombination Clindamycin-Metronidazol, bei 10 von 30 Stämmen mit der Kombination Erythromycin-Metronidazol, bei 4 von 28 Stämmen mit der Kombination Carbenicillin-Metronidazol und bei 3 von 30 Stämmen mit der Kombination Cefoxitin-Metronidazol ein synergistisches Verhalten. In den anderen Fällen war das Verhalten neutral bis additiv; es trat kein Antagonismus auf (10).

Videau et al. untersuchten die Kombination Spiramycin-Metronidazol bei 160 Anaerobierstämmen und fanden in 50% Synergismus (107).
Videau untersuchte die gleiche Kombination in vivo bei der Ratte und in vitro im Bouillondilutionstest bei 29 Anaerobierstämmen und fand in 70% der gramnegativen Anaerobier und in 86% der Mikrokokken- Bacteroidaceen- und Clostridien-Stämme Synergismus. Ein Antagonismus wurde nicht beobachtet (106).

Wise et al. untersuchten die Wirksamkeit der Kombination Spectinomycin-Metronidazol auf Bacteroides-Stämme und fanden ein neutrales bis additives Verhalten (131).

Demnach ist generell die Kombination von Metronidazol mit Penicillinen oder Aminoglycosiden vor allem bei anaeroben Mischinfektionen sehr empfehlenswert. Das entspricht auch den in dieser Untersuchung und in der Arbeit von Knebel (45) gefundenen Kombinationswirkungen von Mezlocillin und Metronidazol auf Anaerobierstämme.

C) Klinische Relevanz der Untersuchungen

1. Keime und Antibiotica

Die klinische Relevanz der hier vorgelegten Untersuchungsergebnisse ergibt sich aus der Pathogenität der getesteten Keime und der In-vivo-Aktivität von Mezlocillin und Metronidazol; von besonderer Bedeutung ist dabei die Relation der klinisch erreichbaren Serum- und Gewebe-Konzentrationen zu den jeweiligen MHK-Werten der beiden Antibiotica gegenüber den einzelnen Keimen.
Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, sind alle zwanzig getesteten Keime fakultativ humanpathogen.

2. Minimale Hemmkonzentration

Die MHK für Metronidazol lag bis auf einen Keim in einem Testverfahren (Peptostreptococcus anaerobius 932 im Agardilutionstest: mehr als 16 µg/ml) nicht über 8 µg/ml, wenn man den Bouillondilutionstest bei Clostridium perfringens 022333 (8 µg/ml) ausklammert, sogar nicht über 4 µg/ml.
Bei Mezlocillin betrug die MHK meist deutlich unter 16 µg/ml, für Clostridium difficile 13720 war sie gleich 16 µg/ml; beide Sphaerophorus-varius-Kulturen hatten MHK-Werte von mindestens 16 µg/ml (Abb. 78).
Einige in anderen Arbeiten wiedergegebene MHK-Werte für die hier untersuchten Keimarten und Species sind in den Tabellen 12 bis 16 wiedergegeben.

MHK-Werte für Metronidazol:

Bakterien	Zahl der Stämme	Kumulative % (Empfindlichkeit) (µg/ml)										
		0,1	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0	128,0	256
Bacteroides fragilis	76	1	12	28	57	86	99	100				
Bacteroides melaninogenicus	69	15	81	93	99	100						
andere Bacteroides und Selenomonas	71	6	42	69	86	94	97		99			100
Fusobacterium fusiforme	18	56	94			100						
andere Fusobakterien	16	38	94	100								
Peptococcus und Gaffkya	58	3	72	88	98						100	
Peptostreptococcus	29	21	69	76	83	86	93	97				100
Anaerobe und microaerophile Streptokokken	10		30			40					50	100
Gram-negative Kokken	25	4	60	92	96	100						
Eubacterium	16	6	44	81	88							100
Arachnia propionica	3		33									100
Propionibacterium	12		8			17						100
Actinomyces	16					13		19	50	56	63	100
Bifidobacterium	5					20		40	60	80		100
Lactobacillus	19	11	37	58		68	79			84	90	100
Clostridium perfringens	9		33	78	100							
andere Clostridien	32	9	53	81	97	100						

Tabelle 12: Aktivität von Metronidazol gegen anaerobe Bakterien nach Sutter und Finegold (97)

Bakterien	Zahl der Stämme	Kumulative % (Empfindlichkeit) (µg/ml)									
		0,1	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0	128,0	256
Fusobacterium fusiforme	19	58	95			100						
Peptococcus und Gaffkya	73	3	69	88	96						97	100
Peptostreptococcus	41	29	66	76	81	83	88	90				100
Clostridium perfringens	12		25	67	100							
andere Clostridien	164	32	54	65	74	84	93	98	100			

Tabelle 13: Aktivität von Metronidazol gegen anaerobe Bakterien nach Sutter und Finegold (98)

Bakterien	Zahl der Stämme	Mittelwert MHK	MBK*	Spanne MHK	Spanne MBK*
					(µg/ml)
Fusobacterium	16(15)	0,4	0,4	0,0025- 25	0,025- 25
C. perfringens	19(15)	1,6	3,2	0,025-12,5	0,025-12,5
andere Clostridien	11(10)	0,8	1,6	0,1-1,6	0,8- 12,5
Peptococcus	10(8)	1,6	1,6	0,4-3,2	0,4-6.25
Peptostreptococcus	9(9)	25	25	0,4- 25	0,8- 25

Tabelle 14: Aktivität von Metronidazol gegen anaerobe Bakterien nach Warner und Prior (108)

*MBK = minimale bakterizide Konzentration

Bakterien	Zahl der Stämme	Kumulative % (Empfindlichkeit) (in µg/ml)									
		0,2	0,4	0,8	1,6	3,1	6,25	12,5	25	50	100
Fusobacterium fusiforme	9	66	100								
Sphaerophorus varius	3	67									100
S. necrophorus	2	50	100								
S. freundii	2	50	100								
Peptostreptococcus anaerobius	59	32	52	61	64			66	69		100
Peptococcus asaccharolyticus	82	8	23	58	78	81	86		87	89	100
Peptococcus prevotii	44	13	22	63	86	90		93			100
Peptococcus variabilis	7	14	85	100							
Clostridium perfringens	36	2	33	77	94	97					100

Tabelle 15: Aktivität von Metronidazol gegen anaerobe Bakterien nach Chow et al. (15).

Bakterien	Zahl der Stämme	Kumulative % (Empfindlichkeit) in µg/ml											
		0,1	0,5	1,o	2,o	4,o	8,o	16,o	32,o	64,o	128,o	256	512
Bacteroides fragilis	34						6	27	62	82	91		100
Bacteroides melaninogenicus	9		67		78	89		100					
andere Bacteroides und Selenomonas	50	10	28	40	50	62	80	88	94	98			100
Fusobacterium fusiforme	10	60	90								100		
andere Fusobakterien	4	25	50	75			100						
Peptococcus und Gaffkya	42	48	95		100								
Peptostreptococcus	13		70		77	85		100					
Anaerobe und microaerophile Streptokokken	4	50	75	100									
Gram-negative Kokken	19			11	26	47	68	74	84			90	100
Eubacterium	9		22	44	78				100				
Arachnia propionica	1					100							
Propionibacterium	7	29	86	100									
Bifidobacterium	5	20	80	100									
Lactobacillus	8	13	63	88			100						
Clostridium perfringens	1		100										
andere Clostridien	7		29	43	86	100							

Tabelle 16: Aktivität von Mezlocillin gegen anaerobe Bakterien nach Sutter und Finegold (97).

Die Mezlocillin-MHK bei Clostridien liegt nach Schacht im Mittel bei 0,5 µg/ml (76).

Werner et al. fanden für Mezlocillin bei Sphaerophorus necrophorus eine MHK von 0,03 µg/ml, bei Sphaerophorus varius 16 µg/ml und bei zwei Stämmen von Sphaerophorus freundii 0,25 bzw. mehr als 256 µg/ml (120).

Mit einigen Ausnahmen stimmen die in anderen Arbeiten angegebenen MHK-Werte mit den bei dieser Untersuchung gefundenen überein. Lediglich bei den Peptostreptokokken liegen die MHK-Werte bei den anderen Untersuchungen sowohl für Mezlocillin als auch für Metronidazol etwas höher. Werner et al. fanden für Mezlocillin bei Sphaerophorus necrophorus niedrigere Werte (120), Chow et al. für Metronidazol etwas höhere (15).
Auch bei den eigenen Untersuchungen fanden sich bei zwei Stämmen einer Species mitunter erhebliche MHK-Unterschiede (Abb. 78).

3. Serum-Spiegel und sonstige pharmakokinetische Größen

Neben den MHK-Werten sind die therapeutisch erreichbaren Serum- bzw. Gewebekonzentrationen der beiden Antibiotica zur Beurteilung ihrer therapeutischen Verwendbarkeit entscheidend.

Bei Mezlocillin liegen die in der Literatur angegebenen. durch intravenöse Applikation erreichbaren Serumspiegel jenseits der in dieser Untersuchung und in anderen Arbeiten gefundenen MHK-Werte (Abb. 99)

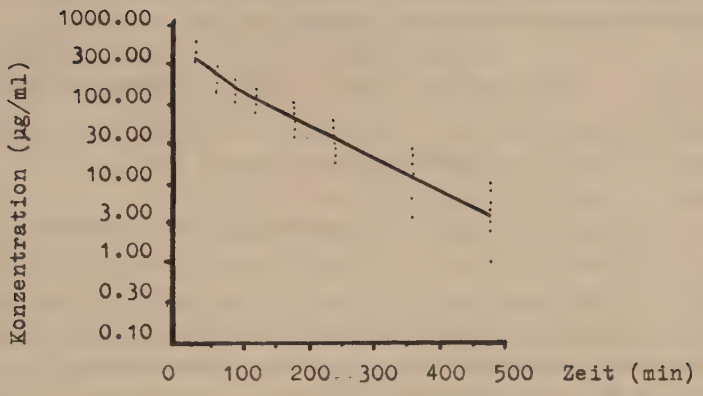


Abb.99: Mezlocillin-Serumkonzentration nach 5g Mezlocillin i.v. (Regressionskurve); nach Niestrath et al. (61)

Zeit:	0	30	60	90	120	150	180 min
Serumspiegel:	500	200	120	100	90	80	70 µg/ml

Tabelle 17: Serumspiegel von Mezlocillin nach Infusion von 5 g i.v. nach Helwig et al. (38)

Lode et al. fanden bei 12 Patienten nach Applikation von 5 g Mezlocillin als Serumspiegel nach 30 min. 426 $\pm$ 61 µg/ml; Schacht fand nach i.v. Applikation von 3 g Mezlocillin Serumspiegel von 47-110 µg/ml, nach 5 g i.v. post infusionem 355-426 µg/ml und nach 3 Stunden 13-60 µg/ml (52, 76).
Auch Konzentrationsuntersuchungen in Organen und Sekreten ergaben in der Regel nennenswerte Wirkspiegel. Die Mezlocillin-Konzentrationen in der Haut sind relativ hoch und fallen mit der Zeit konstant ab (38). In der Leber sind ebenfalls sehr lange konstant

hohe Konzentrationen zu erreichen (38). Im Muskel ist die Konzentration niedriger und fällt sehr schnell ab (38).

Konz.Serum	Zeit	Konz.Haut	Leber	Muskel	µg/ml
500	0	-	-	-	
200	30	100	80	60	
120	60	70	80	50	
100	90	60	60	40	
90	120	50	50	30	
80	150	-	-	-	
70	180	30	50	15	

Tabelle 18: Serum- und Gewebekonzentrationen (µg/ml) nach Applikation von 5 g Mezlocillin i.v. nach Helwig et al.(38).

Die Konzentration im Urin liegt nach Infusion von 3 g Mezlocillin bei 4000 µg/ml (76).

Die in der eigenen Untersuchung und in anderen Arbeiten gefundenen MHK-Werte für Metronidazol liegen in der Regel unter den mit therapeutischen Dosen ermittelten Serumspiegeln. Bei den meisten Anaerobiern liegt die zur Abtötung nötige Metronidazolkonzentration unter 6-8 µg/ml (28, 29, 69, 102, 104).

Stunden	gesamte Metabolite		Metronidazol allein	
0,33	3,82	(µg/ml)	1,04	(µg/ml)
0,5	10,90		5,38	
1	14,94		11,92	
2	13,89		10,71	
3	13,83		9,29	
4	13,36		9,03	
6	11,89		7,68	
8	10,92		6,88	
24	4,90		1,68	
48	1,46		0,26	

Tabelle 19: Serumspiegel von Metronidazol nach einmaliger oraler

Gabe von 750 mg nach Schwartz und Jeunet (81).

Einzeldosis (mg)	200	800	1000	2400
Serumspiegel (µg/ml)	4,8	7,8	19,3	44,6

Tabelle 20: Serumspiegel nach verschiedenen oralen Metronidazol-Einzeldosen nach McFadzean (56).

Nach McFadzean liegt das Serumspiegelplateau nach repetitiver Gabe von 200 mg Metronidazol/die bei 6 µg/ml (56).

Selkon et al. fanden nach Infusion von 600 mg Metronidazol in 8-stündlichen Intervallen Serumspiegel von 35,2 µg/ml nach 1 Std., 33,9 µg/ml nach 4 Std. und 23,7 µg/ml nach 8 Std. (83).
In klinischen Studien wurde Metronidazol im Vaginalsekret, in der Samenflüssigkeit, bei Schwangeren (bei der Mutter im Serum, in der Placenta, im embryonalen Serum) und im Liquor nachgewiesen (1, 37, 54, 69). In der Galle sind sehr lange hohe Konzentrationen gefunden worden (66). Bint und George fanden nach einer Dosierung von 8 mg/kg über zwei Tage im Eiter eines Hirnabszesses eine Konzentration von 42 µg/ml (30). Douglas und Wellingham wiesen in einem Lungenempyem nach drei Tagen 6-stündlich 400 mg im Punktat 24,2 µg/ml Metronidazol nach (90).

4. Bedeutung für die Therapie

Es lassen sich also sowohl mit Mezlocillin als auch mit Metronidazol befriedigend hohe Serum- bzw. Gewebespiegel zur Therapie anaerober Infektionen erzielen; dies gilt sowohl für die hier untersuchten Sphaerophorus-, Fusobacterium-, Peptococcus-, Peptostreptococcus- und Clostridiumarten wie auch für die von Knebel untersuchten Bacteroides-Arten (45). Der besondere Nutzen dieser Antibioticumkombination liegt in der jeweilig guten Wirksamkeit der einzelnen Substanzen auf anaerobe Bakterien, in der hier in vielen Fällen nachgewiesenen synergistischen bzw. ausnahmslos nicht antagonistischen Wirkung (gilt auch für Bacteroides (45)) sowie in dem gleichzeitigen Miterfassen der sehr häufig an Mischinfektionen beteiligten Aerobier.

Die Effizienz dieser Antibioticakombination in vivo müßte in entsprechenden klinischen Studien untersucht werden.

V. Zusammenfassung

Die Kombination von Mezlocillin und Metronidazol auf zwanzig Anaerobierstämme wurde in vitro untersucht.
Geprüft wurden je zwei Stämme der Species Sphaerophorus necrophorus, Sphaerophorus varius, Sphaerophorus freundii, Fusobacterium fusiforme, Peptostreptococcus anaerobius, Peptococcus asaccharolyticus, Peptococcus prevotii, Peptococcus variabilis und Clostridium perfringens sowie je ein Stamm von Clostridium sporogenes und Clostridium difficile.
Als Testmethodik wurden der Bouillondilutionstest und der Agardilutionstest bei allen und ein modifizierter Gußplattentest bei vier ausgewählten Stämmen durchgeführt.
Die mittlere MHK für Mezlocillin lag im Bouillondilutionstest bei 3,0 (0,0078-32) µg/ml, im Agardilutionstest bei 8,27 µg/ml (0,0078-128 µg/ml) und im Gußplattentest bei 4,07 µg/ml (0,031-16 µg/ml), für Metronidazol im Bouillondilutionstest bei 1,03 µg/ml (0,125-8), im Agardilutionstest bei 0,45 µg/ml (0,125-16 µg/ml) und im Gußplattentest bei 0,28 µg/ml (0,125-0,5 µg/ml).
Die Kombination von Mezlocillin und Metronidazol wirkte im Bouillondilutionstest bei 6 von 20 Stämmen synergistisch, bei 5 von 20 additiv, in keinem Fall antagonistisch und in 9 von 20 Fällen neutral. Im Agardilutionstest zeigten 15 Stämme synergistisches, 10 Stämme additives und einer ein neutrales Verhalten. Antagonismus kam auch hier nicht vor. Im Gußplattentest wurden 3 von 4 untersuchten Stämmen synergistisch beeinflußt, ein Stamm verhielt sich indifferent.
Die therapeutisch erreichbaren Serumspiegel von Mezlocillin und Metronidazol liegen in der Regel deutlich über den hier ermittelten MHK-Werten. Damit ist die Kombination von Mezlocillin und Metronidazol aufgrund des manchmal synergistischen oder additiven bzw. niemals antagonistischen Verhaltens für die in der Therapie

vorkommenden aerob-anaeroben Mischinfektionen aus der Sicht dieser In-vitro-Untersuchung sehr empfehlenswert. Eine endgültige Beurteilung ist erst nach kontrollierten klinischen Studien möglich.

VI Literaturverzeichnis

1) Amon — K., Amon, J., Müller, H.:
Maternal-fetal passage of metronidazole.
In: Advances in antimicrobial and antineoplastic chemotherapy.
Proc. VII th. internat. congr. chemother.
Praque 1971 vol II
Antimicrobial Chemotherapy 1 pp. 113-115
University Park Press Baltimore, London, Tokyo
1972

2) André — L.J., Pieri, F. Abed, L.:
Le metronidazole, amoebicide diffusable et amoebicide de contact dans le traitement de l'amibiase.
Méd. Trop. (Madr.) 28 (1968) 483-487

3) Altmeier, — W.A.:
Liver abscess: the etiologic role of anaerobic bacteria.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.; C.C. Thomas Publ., Springfield Ill.
(1974) 327-344

4) Bartlett, — J.G.:
Anaerobes in human infections.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference.
Montreal, Quebec Canada 1976.
Excerpta Medica (1977) 259-270

5) Bartlett, J.G., Finegold, S.M.:
Anaerobic pleuropulmonary infections.
Medicine 51 (1972) 413-450

6) Bartlett, J.G., Sutter, V.L., Finegold, S.M.:
Anaerobic pleuropulmonary disease:
Clinical observations and bacteriology in 100 cases.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R.,
Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Spingfield Ill. (1974) 327-344

7) Bittner, J., Munteanu, V.:
Potentiating action of combining metronidazole and penicillin against Clostridium perfringens in vitro.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 293-298

8) Bodner, S.J., Koenig, M.G., Treanor, L.L., Goodman, J.S.:
Antibiotic susceptibility testing of Bacteroides.
Antimicrob. Ag. Chemother. 2 (1972) 57-60

9) Bodey, G.P., Pan, T.:
Mezlocillin: In vitro studies of a new broad-spectrum penicillin.
Antimicrob Ag. Chemother. 11 (1977) 74-79

10) Busch D.F., Sutter, V.L., Finegold, S.M.:
Activity of combinations of antimicrobial agents against Bacteroides fragilis.
J. Infect. Dis. 133 (1976) 321-327

11) de Carneri, J., Bianchi, A., Castellino, S., Mandelli, V.:
Anaerobic bacteria-synergism between nitroimidazoles and chloramphenicol.
In: Abstracts of the 9th International Congress of Chomotherapy, London (1975)M 184

12) Cerat, G.A., Cerat, L.L., McHenry, M.C., Wagner, J.G., Hall, Ph., Gavan, Th.:
Metronidazole in renal failure.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 404-414

13) Chow, A.W., Barry, R.E., Patten, V., Benfield, J.R., Bray, G.A.:
Effect of metronidazole on the intestinal microflora in patients with jejunoileal bypass.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 368-374

14) Chow, A.W., Guze, L.B.:
Treatment of Bacteroidacae bacteremia - clinical experience with 112 patients.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 553-570

15) Chow, A.W., Bednarz, P., Guze, L.B.:
Susceptibility of obligate anaerobes to metronidazole: an extended study of 1054 clinical isolates.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada

1976
Excerpta Medica (1977) 286-292

16) Cohen, J.: The bacteriology of abscess of the lung and methods of its study.
Arch. Surg. (Chicago) 24 (1932) 171-188

17) Daschner, F.: In-vitro-Kombinationswirkung von Carbenicillin, Mezlocillin und Azlocillin mit Gentamycin und Sisomycin auf Pseudomonas aeroginosa, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae und indolpositive Proteus-Stämme.
Infection (1976) Suppl. 4,331-336

18) Davix, B., Dulbecco, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S., Wood, W.B.:
Microbiology. Harper and Row, New York 1970 786, 827-840

19) Decker, K., Hirsch, H.A.:
Epidemiologie der Erreger von Kolpitiden und Infektionen nach gynäkologischen Operationen.
Arch. Gyn. 219 (1975) 560-567

20) Dostmann, K.W.:
Quantitierende Untersuchungen über die Empfindlichkeit von Peptococcus asaccharolyticus gegen Lysozym und Lysozym-Antibiotika-Kombinationen.
Inaug. Diss. Bonn 1978

21) Eykyn, S., Phillips, J.:
Intravenous metronidazole in the treatment of anaerobic sepsis.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976

Excerpta Medica (1977) 393-403

22) Fass, R.J., Scholand, J.F., Hodges, G.R., Saslaw, S.: Clindamycin in the treatment of serious anaerobic infections.
Ann.Int. Med. 78 (1973) 853-859

23) Fellner, J.M.: Infective endocarditis caused by anaerobic bacteria.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 345-352

24) Fellner, J.M., Dowell, V.H.:
Anaerobic bacterial endocarditis.
New England J. Med. 283 (1970) 1188-1192

25) Finegold S.M.: Antimicrobial therapy of anaerobic infections.
Chemotherapy 21 (1973) 1326-1329

26) Finegold, S.M.: Anaerobic bacteria in human disease.
Academic Press, New York, San Francisco, London 1977

27) Finegold, S.M.:
Current status of therapy of anaerobic infections in humans.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 273-278

28) Finegold, S.M., Sutter, V.L.:
Antimicrobial susceptibility of anaerobic gram-negative bacilli.
In: Host resistance to commensal bacteria.
Churchill, Livingstone, Edinburgh, London 1972
275-279

29) Freeman, W.A., McFadzean, J.A., Whelau, J.:
Activity of metronidazole against experimental tetanus and gas gangrene.
J. Apppl. Bacteriol. 31 (1968) 443-447

30) George, R.H., Bint, A.J.:
Treatment of a brain abscess due to Bacteroides fragilis with metronidazole.
J. Antimicrob. Chemother. 2 (1975) 101-102

31) George, W.L., Sutter, V.L., Finegold, S.M.:
Toxigenicity and antimicrobial susceptibility of Clostridium difficile, a cause of antimicrobial agent - associated colitis.
Curr.Microbiol. 1 (1978) 55-58

32) Gibbons, R.J.: Aspects of the pathogenecity and ecology of the indigenous oral flora of man.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 267-286

33) Gierhake, F.H.: Postoperative Komplikationen durch Anaerobier.
In: Infektion durch sporenlose Anaerobier.
Arbeitstagung Nov. 1975 Frankfurt (Druck: Hoechst)
17-23

34) Gillespie, G., McNaught, W.:
Prophylactic oral metronidazole in intestinal surgery.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 385-389

35) Goodmann, J.S.: Infections due to anaerobic non sporeforming bacilli
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, H., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 219-235

36) Gorbach, S.L.:
Anaerobic microorganisms in intraabdominal infections.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 399-407

37) Gray, M.S., Kane, P.V., Squires, S.:
Further observations on metronidazole.
Br. J. Vener. Dis. 37 (1961) 278-279

38) Helwing, E., Lux, M., Düben, W.:
Mezlocillin: zur Gewebekonzentration und Wirksamkeit.
Med. Klin. 74 (1979) 112-116

39) Heurlin, M.af: Bakteriologische Untersuchungen der Genitalsekrete der nichtschwangeren und nichtpuerperalen

Frau vom Kindes- bis zum Greisenalter unter physiologischen Verhältnissen
S. Karger Berlin 1914

40) Hill M.J., Drasar, B.S.:
Bacteria and the etiology of cancer in the large intestine.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 119-133

41) Hoffmann K., Gierhake, F.W.:
Postoperative Wundinfektionen durch Anaerobier.
Dtsch. Med. Wschr. 93 (1968) 1888-1890

42) Holdeman, L.v.:
Classification of anaerobic bacteria.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 207-214

43) Jordan, T.: Empfindlichkeit von 20 Stämmen der anaeroben Species Corynebacterium acnes gegen 18 Antibiotica.
Inaug. Diss. Bonn 1975

44) Kann, C.: Die Chemotherapeutica-Empfindlichkeit menschenpathogener Peptostreptococcus- und Peptococcus-Arten.
Inaug. Diss. Bonn 1975

45) Knebel, M .: Die In-vitro-Wirkung der Kombination von Metronidazol und Mezlocillin gegen Bacteroides fragilis, B. thetaiotaomicron, B. asaccharolyticus,

B. oralis und weitere Bacteroides-Arten
Inaug. Diss. Bonn 1979

46) Krasemann, C., Werner, H.:
Anaerobier-Resistenzbestimmung.
In: Infektion durch sporenlose Anaerobier.
Arbeitstagung 1975 Frankfurt
(Druck: Hoechst) 116-123

47) Krebs, D.: Die Beteiligung anaerober Mikroorganismen bei gynäkologischen Prozessen.
Med. Klin. 58 (1963) 875-877

48) Küchler, R.: Der Nachweis obligat anaerober Bakterien im Rahmen der bakteriologischen Routineuntersuchung klinischer Untersuchungsmaterialien.
In: Infektionen durch sporenlose Anaerobier.
Arbeitstagung 1975 Frankfurt
(Druck: Hoechst) 65-68

49) Lambe, W.D., Vroon, D.H., Rietz, Ch.W.:
Infections due to anaerobic cocci.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 585-600

50) Larson, A.E., Parry, I.V., Price, A.B., Davies, D.R., Dolby, J., Tyrell, D.A.J.:
Undescribed toxin in pseudomenbranous colitis.
Brit. Med. J. 1 (1977) 1246-1248

51) Ledger, W.S., Lewis, W., Golde, St., Gee, C.:
The use of metronidazole in obstetric and gynecologic infections.
In: Metronidazole. Proceedings of the International

Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 353-358

52) Lode, H., Koeppe, P., Langmaack, H.:
Pharmakokinetik und klinische Erfahrungen mit zwei neuen Penicillinen: Azlocillin und Mezlocillin.
Vortrag gehalten auf der 83. Tagung der deutschen Gesellschaft für Innere Medizin.
Wiesbaden 1977 (Vortragsnummer 449).

53) Loesche, W.J.: Dental infections.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 409-434

54) Manthei, R.W., Feo, C.G., Stambaugh, J.E.:
Identification of the metabolites of metronidazole in human vagina.
Wiad.Parazytol. 15 (1969) 403-405

55) Martin, W.J., Gardner, M., Washington, J.A.:
In vitro susceptibility of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens.
Antimicrob. Ag. Chemother. 1 (1972) 148-158

56) McFadzean, J.A.: The absorption distribution and metabolism of metronidazole.
Med. Today 3 (1969) 10-12

57) McNaught, W., Path, M.:
Metronidazole in the treatment of intra-abdominal infections.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 347-352

58) Menge, K., Kronig, B.:
Über verschiedene Species von Streptokokken.
Geburtsh. Gynäk. 9 (1899) 703-712

59) Moore, W.E.C.: Anaerobes as normal flora:
Gastrointestinal tract
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 222-229

60) Nastro, L.J., Finegold, S.M.:
Bactericidal activity of five antimicrobial agents against Bacteroides fragilis.
J. Infect. Diss. 126 (1972) 104-107

61) Niestrath, U., Lode, H., Koeppe, P.:
Azlocillin und Mezlocillin. Zwei neue semisynthetische Acylureidopenicilline.
Infection 5 (1977) 163-169

62) Nürnberger, L.: Die Erkrankungen der Scheide.
Handb. der Gyn.
J.F. Bergmann München, Band 5/II. Hälfte
67-69, 74-75 (1930)

63) Pearson, H.E., Anderson, G.V.:
Genital bacterial abscesses in woman.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 107 (1970) 1264-1265

64) Pelz, K.: Zur Problematik des Anaerobier-Nachweises aus Routineuntersuchungsmaterial.
In: Infektion durch sporenlose Anaerobier.
Arbeitstagung Nov. 1975 Frankfurt
(Hoechst-Druck) 74-76

65) Pien, F.D., Thompson, R.L., Martin, W.J.:
Clinical and bacteriologic studies of anaerobic grampositive cocci.
Mayo Clin. Proc. 47 (1972) 251-257

66) Pieri, F., André, L.J., Abed, L.:
Étude du métabolisme du metronidazole chez l'homme.
Med. Trop. 29 (1969) 375-376

67) Puhvel, S.M., Reisner, S.M.:
Dermatologic anaerobic infections.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974) 435-450

68) Ralph, E.D., Kirby, W.M.:
Human pharmacology of oral metronidazole as determined by bioassay.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec, Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 50-57

69) Ralph, E.D., Clarke, J.T., Libke, R.D., Lüthy R.P., Kirby, W.M.M.:
Pharmacokinetics of metronidazole as determined by bioassay.
Antimicrob. Ag. Chemother. 6 (1974) 691-696

70) Richter, K.: Erkrankungen der Vagina.
In: Schwalm, H., Döderlein, G.:
Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Bd. VIII, Urban und Schwarzenberg
München, Berlin, Wien (1973) 526

71) Ritzerfeld, W.: Bakteriologie, Virologie und Parasitologie.
In: Käser, O., Friedberg, V., Ober, K.G., Thomsen, K., Zander, J.:
Gynäkologie und Geburtshilfe.
Thieme Stuttgart, Bd. III (1972) 128-139

72) Rosebury, T.: Microorganismes indigenous to man.
McGraw-Hill Book Company New York (1966)

73) Rosenblatt, J.E., Fallon, A., Finegold, S.M.:
Comparison of methods for isolation of anaerobic bacteria from clinical specimens.
Appl. Microbiol. 25 (1973) 77-85

74) Sabbaj, J., Sutter, V.L., Finegold, S.M.:
Anaerobic pyogenic liver abscess.
Am. Int. Med. 77 (1972) 629-638

75) Schaal, K.P.: Natürliches Vorkommen und klinische Bedeutung grampositiver nicht sporenbildender Anaerobier.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 228 (1974) 56-62

76) Schacht, P.: Neue Entwicklungen und theoretische Grundlagen bei Penicillinen.
Med. Welt, 29 (1978) 696-700

77) Schottmüller, H.: Über bakteriologische Untersuchungen und ihre Methoden bei febris puerperalis.
Münch. Med. Wschr. 53 (1911) 787-789

78) Schottmüller, H.: Zur Ätiologie des febris puerperalis und febris in puerperio.
Münch. Med. Wschr. 53 (1911) 557-558

79) Schoutens, E., Labbé, M., Yourassowsky, E.:
Septicémies à Bacteroides fragilis.
Incidence et sensibilité des souches aux antibiotiques.
Path. Biol. (Paris) 21 (1973) 349-353

80) Schultz, W.: Die Entzündung der weiblichen Anhänge.
Dtsch. Med. Wschr. 87 (1962) 1568-1592

81) Schwartz, D.E., Jeunet, F.:
Comperative pharmacokinetic studies of ornidazole and metronidazole in man.
Chemotherapy 22 (1976) 19-29

82) Schwartz, M.N., Karchmer, A.W.:
Infections of the nervous system.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill.
(1974) 309-325

83) Selkon, J.B., Hale, J.H.:
Metronidazole in the treatment of anaerobic infection in man.
In: Abstracts of the 9th International Congress of Chemotherapy, London (1975) M 190

84) Selkon, J.B., Ingham, H.R., Hale, J.H.:
Experience with intravenous administration of metronidazole in man.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec, Canada 1976.
Excerpta Medica (1977) 390-392

85) Shah, P.M., Stille, W.:
Anaerobe Lungeninfektionen.
In: Infektionen durch sporenlose Anaerobier.
Arbeitstagung Nov. 1975, Frankfurt,
(Druck: Hoechst) 24-29

86) Shinn, D.L.: Vincents' disease and its treatment.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal,
Quebec, Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 334-340

87) Siegel, P.: Die Rolle der Bakteriologie in Gynäkologie und Geburtshilfe.
Med. Welt 43 (1961) 2209-2216

88) Simon, C., Stille, W.:
Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis.
Schattauer Verlag, Stuttgart (1973)

89) Simon, C., Toeller, W.:
Kindliche Infektionen durch sporenlose Anaerobier.
In: Infektionen durch sporenlose Anaerobier,
Arbeitstagung Nov. 1975, Frankfurt
(Druck: Hoechst) 55-57

90) Smith, D., Wellingham, J.:
Metronidazole in treatment of empyema.
Br. Med. J. 1 (1976) 1074-1075

91) Sonnenwirth, A.C.: Incidence of intestinal anaerobes in blood cultures.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R.,
Guze, L.B.

C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974)
157-171

92) Sonnenwirth, A.C.: Anaerobic culture techniques.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference
Montreal, Quebec, Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 236-244

93) Spengruber, B.: Die Empfindlichkeit von 80 Stämmen gramnegativer sporenloser Stäbchen der Species Bacteroides fragilis, B.thetaiotaomicron und B. vulgatus gegen Tetracyclin, Rolitetracyclin und Doxycyclin.
Inaug. Diss., Bonn 1976

94) Stambough, J.E., Feo, L.G., Manthei, R.W.:
The isolation and identification of the urinary oxidative metabolites of metronidazole in man.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 161 (1968) 373-381

95) Stille, W., Helm, E.B., Shah, P.M.:
Bacteroides Sepsis.
In: Infektionen durch sporenlose Anaerobier, Arbeitstagung Nov. (1975) Frankfurt
(Druck: Hoechst) 46-54

96) Stokes, E.J.: Anaerobes in routine diagnostic cultures.
Lancet 1 (1958) 668-670

97) Sutter, V.L., Finegold S.M.:
Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents.
Antimicrob. Ag. Chemother. 10 (1976) 736-752

98) Sutter, V.L., Finegold, S.M.:
In vitro studies with metronidazole against anaerobic bacteria.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec, Canada 1976.
Excerpta Medica (1977) 279-285

99) Sutter, V.L., Kwok , J., Finegold, S.M.:
Susceptibility of Bacteroides fragilis to six antibiotics determined by standardized antimicrobial disc susceptibility testing.
Antimicrob. Ag. Chemother. 3 (1973) 188-193

100) Swenson, R.M.: Anaerobic bacteria in infections of the female genital tract.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill.
(1974) 379-384

101) Tally, F.P.: Treatment of anaerobic pleuropulmonary infection and preliminary evaluation of metronidazole.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec, Canada 1976.
Excerpta Medica (1977) 341-346

102) Tally, F.P., Sutter, V.L., Finegold, S.M.:
Metronidazole versus anaerobes - in vitro data and clinical observations.
Calif. Med. 117 (1972) 22-26

103) Taylor, J.A., Migliardi, J.R., Wittenau, Sch.v.:
Tinidazole and metronidazole pharmacokinetics in man and mouse.
Antimicrob. Ag. Chemother. (1969) 267-270

104) Templeton, R.: Metabolism and pharmacokinetics of metronidazole.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec, Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 28-49

105) Veillon, A.: Sur un microcoque anaérobie trouvé dans des suppurations fétides.
C.R. Soc. Biol. 5 (1893) 807-809

106) Videau, D.: Association métronidazol - spiromycine sur les germes anaérobies.
Path. Biol. (1971) 661-666

107) Videau, D., Blanchard, J.C., Sebald, M.:
Flore bucco-dentaire. Sensibilité aux antibiotiques et intérêt de l'association spiromycine-metronidazol.
Am. Microbiol. (Inst. Pasteur) 124 B (1973) 505-516

108) Warner, J.F., Prior, R.B.:
Clinical and in vitro studies of the bactericidal activity of metronidazole against anaerobic bacteria.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal, Quebec, Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 359-367

109) Washington, J.A., Martin, W.S., Hermans, P.E.:
In vitro susceptibility of anaerobic bacteria isolated from blood cultures.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974)
487-496

110) Weinberg, A.N.: Infections due to anaerobic cocci.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thomas Publ., Springfield Ill. (1974)
257-265

111) Weissenbacher, E.R.: Bedeutung der sporenlosen Anaerobier im Bereich des weiblichen Urogenitaltraktes.
In: Infektionen durch sporenlose Anaerobier, Arbeitstagung Nov. 1975 Frankfurt
(Druck: Hoechst) 36-40

112) Weissenbacher, E.R., Mursic, V.:
Über das Vorkommen von anaeroben Vibrionen bei chronisch - recidivierendem Fluor.
Med. Klin. 71 (1976) 629-630

113) Werner, H.: A comparative study of 55 Sphaerophorus strains. Differentiation of 3 species: Sphaerophorus necrophorus, Sph. varius and Sph.freundii.
Zschr. Med. Microbiol. Immunol. 157 (1972)
299-314

114) Werner, H.: A serological study of strains belonging to Sphaerophorus necrophorus, Sph. varius

and Sph. freundii.
Zschr. Med. Microbiol. Immunol. 157 (1972)
315-324

115) Werner, H.: Experimentelle Infektionen durch Bacteroidazeen.
In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie
Band XVI/11, pp. 185-229
Springer, Berlin 1973

116) Werner, H.: Differentiation and medical importance of saccharolytic intestinal Bacteroides.
Arzneimittel Forsch. 24 (1974) 340-343

117) Werner, H.: Infektionen durch gramnegative Anaerobier.
Med. Klin. 70 (1975) 1899-1904

118) Werner, H.: Infektionen durch sporenlose Anaerobier.
Broschüre für Ärzte, Hoechst AG Frankfurt
(1975)

119) Werner, H.: Anaerobes as normal flora: Other sites.
In: Metronidazole. Proceedings of the International Metronidazole Conference Montreal,
Quebec, Canada 1976
Excerpta Medica (1977) 229-235

120) Werner, H., Krasemann, C., Ungerechts, J., Schmitz, H.J.:
Die In-vitro-Aktivität von Mezlocillin, Azlocillin und Carbenicillin gegen Bacteroidaceae unter besonderer Berücksichtigung der Fragilis-Gruppe.
Infektion 5 (1977) 17-21

121) Werner, H., Neuhaus, F., Hussels, H.:
A biochemical study of fusiform anaerobes.
Med. Microbiol. Immunol. 157 (1971) 10-16

122) Werner, H., Neuhaus, F., Hussels, H.:
Pleuraempyem durch die anaerobe nichtsporenbildende Bakterienart Sphaerophorus necrophorus.
Dtsch. Med. Wschr. 96 (1971) 202-205

123) Werner, H., Neuhaus, F., Reichertz, C.:
Otogener Hirnabszess durch die darmbewohnende Bacteroides-Art B. fragilis.
Dtsch. Med. Wschr. 95 (1970) 343-345

124) Werner, H., Pulverer, G.:
Häufigkeit und medizinische Bedeutung der eitererregenden Bacteroides- und Sphaerophorus-Arten.
Dtsch. Med. Wschr. 96 (1971) 1325-1329

125) Werner, H., Rintelen, G.:
Anaerobe grampositive Kokken (Peptococcus- und Peptostreptococcus-Arten) aus pathologischem Material. Vortrag gehalten am 4.10.72 auf der 4. Arbeitstagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie in Mainz; Ref. in Zbl. Bakt., I Abt. Ref. 233 (1973) 55

126) Werner, H., Rintelen, G.:
Anaerobe grampositive Kokken (Peptococcus variabilis, P. asaccharolyticus, P. prevotii und P. saccharolyticus) aus pathologischem Material.
Zbl. Bakt. Hyg. 1. Abt. Orig. 223 (1973) 496-503

127) Werner, H., Rintelen, G., Lohner, C.:
Identifizierung und medizinische Bedeutung von

8 aus pathologischem Material isolierten Clostridium-Arten.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 224 (1973) 220-226

128) Werner, H., Spengruber, B., Kunstek-Santos, H.:
In vitro Empfindlichkeit Eiter- und Sepsis-erregender Anaerobier der Bacteroides-Gruppe gegen Rolitetracyclin.
Münch. Med. Wschr. 117 (1975) 633-636

129) Wiesmann, E.: Medizinische Mikrobiologie. 138-148
Thieme Stuttgart (1974)

130) Willis, A.T.: Some infections due to anaerobic spore-forming bacilli.
In: Anaerobic bacteria - role in disease.
(Ed.) Balows, A., Dehaan, R.M., Dowell, V.R., Guze, L.B.,
C.C. Thoras Publ., Springfield Ill. (1974) 195-217

131) Wise, R., Andrews, J.M., Bedford, K.A.:
The antimicrobial effect of combinations of clindamycin and metronidazole with spectinomycin.
J. Antimicrob. Chemoth. 1 (1975) 439-440

132) Zabransky, R.J., Johnston, J.H., Hauser, K.J.:
Bacteriostatic and bactericidal activities of various antibiotics against Bacteroides fragilis.
Antimicrob. Ag. Chemother. 3 (1973) 152-156

Ich danke Herrn Professor Werner für die Überlassung des Themas und für die vielen hilfreichen Gespräche. Mein Dank gilt ebenso Frau Dr. Krasemann für ihre wertvolle Unterstützung.

LEBENSLAUF

Am 5. Mai 1952 wurde ich als Sohn der Eheleute Hanns Hoffmann und Eva Hoffmann in Bonn geboren.
Ostern 1959 wurde ich in die Robert-Koch-Schule in Bonn eingeschult und wechselte von dort Ostern 1963 an das Pädagogium Otto-Kühne-Schule über.
Von 1965 bis 1966 besuchte ich das Arndt Gymnasium in Berlin.
Am 18. Mai 1971 bestand ich am Pädagogium Otto-Kühne-Schule in Bonn die Reifeprüfung.
Im Wintersemester 1971/72 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Bonn.
Am 22. März 1973 legte ich das Vorphysikum ab, am 30. März 1974 das Physikum.
Am 25. Oktober 1978 bestand ich die ärztliche Prüfung und erhielt am 1. Dezember 1978 die Approbation als Arzt.